



TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO

**HEINI AROMAA**

**POLYKAPROLAKTONIN KÄYTTÖ JA OMINAISUUDET  
BIOMATERIAALINA**

Diplomityö

Tarkastajat: Professori Minna Kellomäki ja Laboratorioinsinööri Mika Pelto

Tarkastaja ja aihe hyväksytty: Tiedekuntaneuvostossa 3.2.2010

## TIIVISTELMÄ

TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO

Materiaalitekniikan koulutusohjelma

**AROMAA, HEINI:** Polykaprolaktonin ominaisuudet ja käyttö biomateriaalina

Diplomityö: 78 sivua, 3 liitettä (4 sivua)

Pääaine: Biomateriaalitekniikka

Tarkastajat: Professori Minna Kellomäki ja Laboratorioinsinööri Mika Peltö

Avainsanat: polykaprolaktoni, luusementti, injektointavuus, osteoporoosi, luuruuvit

Ennen markkinoille saapumista kehoon asennettavat tuotteet käyvät läpi useita tutkimuksia. Viranomaisten hyväksynnälle tulee esittää vahvat todisteet, ettei materiaali tai laite ole käyttäjälleen vaarallinen sen elinkaaren aikana. Polykaprolaktoni (PCL) on laajasti tunnettu biohajoava polymeeri, jota on käytetty muun muassa lääkeluovutuslaitteiden materiaalina. Kirjallisuudesta löytyy useita tutkimuksia koskien PCL:ia, joten sen ominaisuuksia fysiologisissa olosuhteissa tunnetaan jo laajasti. Tämän työn tarkoitus oli perehtyä tarkemmin kirjallisuudessa löytyviin tietoihin PCL:ista. Kokeellisessa osuudessa tutkitaan PCL:n soveltuvuutta uuteen mahdolliseen luusementin kaltaiseen sovellutukseen.

Molekyylipainon, puhtausasteen, lämpötilan ja gammasteriloinnin aiheuttamia muutoksia PCL:n mekaanisiin ominaisuuksiin tutkittiin veto- ja puristuskoesarjoilla. Tutkimuksessa käytettiin eri PCL-laatuja, joiden vaihtelevina ominaisuuksina olivat molekyylipaino ja puhtausaste. Mekaanisten ominaisuuksien lisäksi tutkittavasta polymeeristä havainnoitiin sen injektointavuutta, kykyä ankkuroida luuruuveja paikoilleen sekä kemiallista pysyvyyttä yleisesti sairaaloissa käytetyissä liuottimissa. Ulosvetokokeiden tarkoituksena oli määrittää voima, joka tarvitaan irrottamaan ruuvi alustastaan. Kiinnitystä parannettiin ankkuroimalla ruuvit alustaan PCL:illa. Injektoinnissa tarkkailtiin PCL-sulan lämpötilan vaikutusta injektointiin tarvittavaan voimaan. Ruuvien ulosvetokokeen ja injektointavuuden koejärjestelyt pohjautuivat kirjallisuudesta löytyviin luusementeille tehtyihin kokeisiin. Kaikki testit suoritettiin mahdollisimman pitkälle standardien mukaisesti.

Tuloksista huomattiin kuinka lämpötilalla oli suurin merkitys materiaalin lujuusominaisuuksiin. Kuivassa, korotetussa lämpötilassa PCL alkaa pehmentyä ja menettää lineaarisesti mekaanisia ominaisuuksiaan. Polymeeriketjujen vähäistä ristisilloittumista gammasteriloinnin jälkeen kertovat tulokset, joiden mukaan polymeerin sisäisen viskositeetin arvoinen vaihteli välillä 0,01 ja 0,08 yksikköä. PCL:in lujuus säilyi lähes muuttumattomana, mutta elastisuus katosi gammasteriloinnista johtuen. Yleisesti käytössä olevien antiseptisten aineiden, kuten vetyperoksidin ja natriumkloridin, ei huomattu liottavan PCL:ia. Ulosvetokokeissa suurihuokoisessa alustassa polymeeri pääsi tunkeutumaan huokoisien väliin ja voima lisääntyi jopa 25-kertaiseksi ruuvien dimensioista riippuen.

---

## ABSTRACT

TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Master's Degree Programme in Material's science

AROMAA, HEINI: Polycaprolactone's characteristics and use as biomaterial

Master of Science Thesis, 78 pages, 3 appendices (3 pages)

Major: Biomaterials

Examiners: Professor Minna Kellomäki and Laboratory Engineer Mika Pelto

Keywords: Polycaprolactone, bone cement, injectability, osteoporosis, bone screws

---

New medical products are subjected to several studies before arriving to the market. Strong evidence of material's safety during its life cycle must be submitted for authorities. Polycaprolactone (PCL) is widely studied and used as a biodegradable polymer. One of the most interesting applications where PCL has been used is drug delivery devices. Several studies can be found in the literature concerning PCL's characteristics. Processing, sterilisation, storage and degradation of PCL alter the structure and properties of the polymer. The aim of the thesis was to study PCL's characteristics during its lifecycle in a new potential medical product similar to bone cement. The experimental part of the thesis interpolates knowledge about PCL characteristics concerning this novel product.

Molecular weight, purity, temperature and gamma sterilisation can cause some changes in PCL's characteristics. These changes in characteristics of PCL were examined by compression and tensile tests. Several different PCL types were studied varying in molecular weight and purity. Other experiments focused on PCL's injectability, ability to anchor the bone screws to the bone, and its stability in chemical solvents used in hospital environment. Injectability and pull out test set ups were based on tests used to determine bone cement's injectability and bone screws pull out strength presented in the literature. All tests were carried out as far as possible in accordance with standards.

Results revealed that temperature had a great effect on material's strength. Dry elevated temperature softens the structure of PCL and the polymer starts to lose linearly its mechanical properties. Gamma sterilisation induced some cross-linking in polymer chains as in inherent viscosity (IV) values were reduced by 0.01-0.08. Molecular weight decreased slightly leaving the strength on the same level as it was before sterilisation. Notable observation was how PCL turned to brittle due to gamma irradiation. Common antiseptic solvents like sodiumchloride and hydrogen peroxide had no effect on PCL in the solubility test. Injectability was observed by measuring the force needed to inject polymer melts in different temperatures. In open pore block PCL was spread on a large area through pores. Pull out strength was up to 25-times higher than without polymer augmentation, depending on screws dimensions.

## ALKUSANAT

Tämä diplomityö on toteutettu yhteistyössä Tampereen teknillisen yliopiston biolääketieteen laitoksen ja yrityksen kanssa. Työ oli osa laajempaa projektia, jonka tarkoituksena oli kehittää uusi lääketieteellinen tuotemuoto kyseiselle yritykselle. Yritys toimi työn rahoittajana.

Haluan esittää suurimmat kiitokseni työn tarkastajille professori Minna Kellonmäelle ja laboratorioinsinöörille Mika Pellolle sekä yrityksen edustajalle Karri Airolalle tästä mahdollisuudesta päästä toteuttamaan mielenkiintoista tutkimustyötä. Heidän neuvonsa ja opastuksensa työn aikana olivat korvaamattomia. Esitän myös parhaat kiitokseni Hermian puolen laboratoriohenkilökunnalle, muille työkavereilleni sekä pajan väelle arvokkaista ohjeista ja neuvoista.

Lopuksi haluaisin ilmaista lämpimimmät kiitokseni perheelleni ja ystävilleni, jotka ovat tukeneet minua koko opiskelun ajan. Kaunis kiitos kuuluu myös avopuolisolleni arvokkaasta tuesta.

Tampere, 17. syyskuuta, 2010

---

Heini Aromaa

Hylliniitynkatu 17 as. 3  
33820 Tampere

## SISÄLLYS

1.	Johdanto .....	1
2.	Polykaprolaktone biomateriaalina .....	3
2.1	Rakenne ja polymerisointi .....	3
2.1.1	Polymerointi .....	5
2.2	Hajoaminen.....	7
2.2.1	Polykaprolaktonin hajoaminen elimistössä .....	8
2.2.2	Polykaprolaktonin muut hajoamisprosessit.....	11
2.3	Prosessointi.....	12
2.4	Kopolymerointi, blendaus ja komposiitit .....	15
2.5	Käyttökohteet lääketieteessä .....	16
2.6	Muut käyttökohteet.....	17
3.	Polykaprolaktonin ominaisuudet.....	19
3.1	Mekaaniset ominaisuudet .....	19
3.2	Termiset ominaisuudet .....	21
3.3	Kemiallinen kesto .....	22
3.4	Biokompatibiliteetti .....	23
3.5	Steriloitavuus .....	24
3.5.1	Etyleenioksidi .....	25
3.5.2	Säteilysterilointi.....	25
4.	Luusementit.....	28
4.1	Luusementtien tuomat edut ja haitat.....	28
4.2	Luusementteinä käytettyjä materiaaleja .....	29
4.2.1	Akryylipohjaiset sementit.....	29
4.2.2	Kalsiumpohjaiset sementit.....	31
4.3	Luusementtien tutkimus .....	32
4.3.1	Luuta mallintavat testialustat.....	32
4.3.2	Ruuvien ulosveto .....	33
4.3.3	Injektoitavuus .....	35
5.	Kokeellisen osuuden tehtävän määrittely.....	37
6.	Materiaalit ja menetelmät.....	38
6.1	Materiaalit.....	38
6.2	Testikappaleiden valmistus .....	39
6.3	Mekaaniset koestukset.....	40
6.3.1	Vetokoe.....	40
6.3.2	Puristuskoe .....	42
6.3.3	Ruuvien ulosveto .....	44
6.4.	Muut testit.....	46
6.4.1	Kemiallinen kestävyys.....	46
6.4.2	Injektoitavuus .....	47

---

6.4.3	Sisäinen viskositeetti .....	48
6.5	Tilastollinen analyysi.....	49
7.	Tulosten tarkastelu .....	50
7.1	Sisäinen viskositeetti .....	50
7.2	Mekaaniset ominaisuudet .....	50
7.2.1	Vetolujuus.....	50
7.2.2	Puristuslujuus .....	58
7.2.3	Ruuvien ulosvetokoe .....	61
7.3	Kemiallinen kestävyys .....	64
7.4	Injektoitavuus .....	67
8.	Johtopäätökset .....	69
	Lähteet.....	71
	Liite A: Vetokokeiden voima-siirtymäkäyrät .....	79
	Liite B: Kemiallisen kestävyden tulokset .....	82
	Liite C: Mann-Whitney U testin taulukkoarvot .....	83

## TERMIT JA NIIDEN MÄÄRITELMÄT

<b>Alifaattinen</b>	Orgaaninen lineaarinen hiilyhdiste
<b>Aromaattinen</b>	Rengasrakenteinen kemiallinen yhdiste
<b>bar</b>	Paineen yksikkö (baari), jossa neliösenttimetrille kohdistuu 10 N voima
<b>CaSO<sub>4</sub></b>	Kalsiumsulfaatti
<b>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</b>	Etanoli
<b>C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub></b>	Maitohappo
<b>CPC</b>	Kalsiumpohjaiset luusementit
<b>FDA</b>	Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto
<b>EB</b>	Elektronisäteilysterilointi
<b>EtO</b>	Etyleenioksidi
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Vetyperoksidiliuos
<b>HA</b>	Hydroksiapatiitti
<b>Hydrofobinen</b>	Vesipakoinen
<b>Hydrofiilinen</b>	Vesihakuinen
<b>Hydrolyysi</b>	Kemiallinen reaktio, jossa vesi hajoittaa aineen takaisin lähtöaineikseen
<b><i>In vitro</i></b>	Solun tai organismin ulkopuolella suoritettava tutkimus
<b><i>In vivo</i></b>	Elävän organismin sisällä tutkimus
<b>IUPAC</b>	Orgaanisten yhdisteiden kansainvälinen nimeämiskäytäntö
<b>kGy</b>	Kilogray on säteilyannoksen yksikkö SI-järjestelmässä
<b>M<sub>w</sub></b>	Painokeskimääräinen molekyylipaino
<b>M<sub>n</sub></b>	Numerokeskimääräinen molekyylipaino
<b>MRad</b>	Megarad, säteilyannostuksen yksikkö, 1 MRad=10 kGy

---

<b>NaCl</b>	Natriumkloridi
<b>NaOH</b>	Natriumhydroksidi
<b><i>nm</i></b>	Nanometri on $10^{-9}$ m:ia
<b>MPa</b>	Megapascal on $10^6$ Pascalia
<b>N</b>	Newton on voiman yksikkö SI-järjestelmässä, joka antaa 1 kg:n massalle kiihtyvyyden $1 \text{ m/s}^2$
<b>Pa</b>	Pascal on paineen yksikkö SI-järjestelmässä = $1 \text{ N/m}^2$
<b>PCL</b>	Polykaprolaktoni
<b>PGA</b>	Polyglykoli
<b>PTFE</b>	Polytetrafluorieteeni
<b>PMMA</b>	Polymetyylimetakrylaatti
<b>PUR</b>	Polyuretaani
<b>PVP</b>	Vertebroplastia, selkänikaman nikamasolmun hoitomenetelmä
<b>ROP</b>	Renkaanavautumispolymerointi
<b>Sn(Oct)<sub>2</sub></b>	Sn(II)2-etyyliheksanoaatti, tinaoktoaatti
<b>T<sub>g</sub></b>	Polymeerin lasisiirtymälämpötila
<b>T<sub>m</sub></b>	Polymeerin sulamislämpötila
<b>β-TCP</b>	β-trikalsiumfosfaatti
<b>UV</b>	Ultraviolettivalo
<b>γ-säteily</b>	Gammasäteily
<b>σ</b>	Jännitys
<b>ε</b>	Venymä



## 1. JOHDANTO

Luunmurtumien hoidossa voidaan käyttää elimistössä hajoavia biomateriaaleja, jotka tukevat ja/tai edesauttavat luun uudelleen muodostumista. Polykaprolaktoni (PCL), polylaktidi (PLA) ja polyglykoli (PGA) sekä näiden yhdistelmät ovat esimerkkejä polymereistä, joita on käytetty luunmurtumien fiksaatioon kudosteknologisten kasvatusalustojen avulla. (Gough & Christian 2008)

Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) on hyväksynyt PCL:n käytön kehoon implantoitavana materiaalina. Uusien sovellutusten tutkimusvaatimukset ovat lievemmat FDA:n hyväksymillä materiaaleilla. Terveystieteiden laitteen turvallisuutta Suomessa valvoo lääkelaitos. Ennen markkinoille saattamista valmistajan tulee tehdä tuotteelle riskianalyysi ja todistaa tuote turvalliseksi. (Lääkelaitos 2010) Valmistajien suositellaan käyttävän standardien mukaisia testausmenetelmiä. Standardilla tarkoitetaan laadittuja säädöksiä yhdenmukaisten käytäntöjen luomiseksi (SFS 45020).

Erityisesti lääketäluovuttavien laitteiden materiaalitutkimuksessa PCL:ää on ollut jo pitkään käytössä, sillä se menettää hajotessaan mekaaniset ominaisuutensa hitaammin kuin monet muut biohajoavat polymeerit. (Gough & Christian 2008) PCL:n ominaisuuksia voidaan varioida muuttamalla sen rakennetta ja molekyyliä painoa sekä kopolymeroimalla tai blendaamalla se muiden aineiden kanssa (Corden et al. 2000; Södergård & Stolt 2002; Ang 2007 et al.; Wang & Dong 2006; Gough & Christian 2008). Yleisesti käytetään lineaarirakenteista, suuren keskimääräisen molekyyliä painon PCL:a. Alhaisemmillä molekyyliä painoilla PCL menettää mekaanisen lujuutensa ja elastisuutensa lisääntyneen kiderakenteensa vuoksi. (Gough & Christian 2008) Teoriaosuuden ensimmäinen osa käsittelee PCL:n kemiallista ja mikroskooppista rakennetta, polymerointia ja yleisiä ominaisuuksia, jotta saadaan selkeämpi kuva kokeellisen osuuden tuloksista.

PCL:n pohjautuvia lääketieteellisiä tuotteita markkinoilla ovat lääketä luovuttavat laitteet, ommellangat eli suturat, niveltynyt ja hammasjuuren täyteaineet. (Perrin 1997; Alani et al. 2009; Sbi inc.) Lupaavia tulevaisuuden tuotteita ovat kudosteknologiset kasvatusalustat, lääkeluovutusmikro- ja nanopartikkelit, sekä injektoidavat luufiksaatiotuotteet (Oser 1980; Sinha et al. 2004). Näiden kaikkien tuotteiden tärkeimpiin ominaisuuksiin kuuluvat biokompatibiliteetti ja steriloitavuus. PCL-pohjaisia tuotteita ja näiden ominaisuuksia tarkastellaan kirjallisuusselvityksessä.

Teoriaosuuden toisessa osiossa perehdytään akryyli- ja kalsiumpohjaisiin luusementteihin. Näitä käytetään etenkin lonkkaproteesileikkauksissa silloin, kun potilas kärsii osteoporoosista. Luun rakenne muuttuu hauraammaksi ikääntymisen

myötä, mutta tavanomaista voimakkaampi haurastuminen luokitellaan sairaudeksi. Osteoporoosiliiton mukaan Suomessa hoidetaan kyseisestä sairaudesta johtuvia murtumia noin 35 000 tapausta vuodessa. (Osteoporoosiliitto 2009) Lisääntynyt murtuma-alttius sekä heikentynyt kiinnittyminen luuruuveille aiheuttavat ongelmia murtumien hoidossa. Akryyli- ja kalsiumpohjaisia luusementtejä on tutkittu käytettäväksi proteesien kiinnittämisen lisäksi luuruuvien ankkurointiin osteoporoottiseen luuhun. (Larsson 2006)

Akryylipohjaiset sementit eivät hajoa kehossa. Niiden avulla voidaan kiinnittää lonkkaproteesin varsi tai luuruuvi paremmin paikoilleen. Akryylipohjaisten sementtien käytössä on useita ongelmia, joten vaihtoehtoisten materiaalien tutkimus on saanut osakseen laajaa huomiota. Kalsiumpohjaisista sementtien ongelmana ovat niiden heikot mekaaniset ominaisuudet. Markkinoilta löytyy muutamia kalsiumpohjaisia luumurtumien hoitoon tarkoitettuja injektoitavia luusementtejä. (Clarkin et al. 2009)

Työn kokeellinen osuus aloitettiin tutkimmalla eri molekyyliainepainoisten PCL:ien mekaanisia ominaisuuksia. Vertailussa käytettiin teknisen laadun ja puhtaamman lääketieteellisen laadun polymeerejä. Kokeiden tavoitteena oli löytää sellainen PCL vaihtoehto, jonka mekaaniset ominaisuudet olisivat sopivia mahdollisen uuden injektoitavan lääketieteellisen materiaalin näkökulmasta katsottuna. Työn toisena päätavoitteena oli tutkia, miten PCL käyttäytyy kyseisenä tuotteena asennuksen yhteydessä.

Mekaanisissa testeissä tutkittiin lämpötilan ja gammasteriloinnin aiheuttamia muutoksia tutkittavan polymeerin rakenteessa. Elimistön tulehdusvaste infektoihin voi aiheuttaa pidempiaikaista lämpötilan nousua kehossa. Kudoksen lämpötilan nousu vaikuttaa näin myös injektoituun PCL:in. Tämän tiedon nojalla yhdeksi välitavoitteeksi asetettiin materiaalin käyttäytymisen tutkiminen korotetuissa lämpötiloissa.

Injektoitavuus-, kemiallinen kesto- ja ruuvinulosvetokokeilla tutkittiin PCL:n ominaisuuksia mahdollisessa uudessa käyttötarkoituksessaan. Injektoitavuuskokeiden tavoitteena oli määrittää sopiva injektioimislämpötila, joka ei aiheuta kudossympäristössä vaurioita. Ruuvin ulosvetotesti mittaa voimaa, joka tarvitaan irrottamaan ruuvi sen alustastaan. Pitovoimaan vaikuttavat ruuvin rakenne ja materiaali, asennustekniikka, ruuvin reiän muoto, sekä luuntiheys. Luuruvien pitovoimaa voidaan mallintaa kiinnittämällä ruuvit luuhun tai luuta muistuttavaan aineeseen. (Wang et al. 2009) Ruuvinulosvetotestien tavoitteena oli tutkia, miten PCL käyttäytyy avo- ja pienihuokoisessa luuta mallintavassa testialustassa.

## 2. POLYKAPROLAKTONI BIOMATERIAALINA

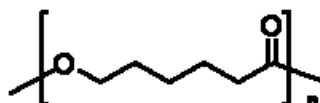
Biomateriaaleilla tarkoitetaan synteettisestä tai luonnonmateriaalista valmistettua materiaalia, jota käytetään kosketuksessa tai vuorovaikutuksessa biologisen systeemin kuten kudoksen, veren tai kudostesteiden kanssa (Williams 1999, s.42). Lääketieteessä biomateriaaleja käytetään diagnostiikassa, proteesimateriaaleina tai terapeuttisissa tuotteissa. Materiaalit eivät saa kuormittaa kehoa haitallisesti. (Lääkelaitos 2010)

PCL kuuluu alifaattiseen polyesteriperheeseen. Tutkijat valmistivat ensimmäisiä PCL:eita 1930-luvulla renkaanavautumispolymeraatiolla. Materiaalin biohajoaminen huomattiin kuitenkin vasta vuonna 1973 ja PCL-tutkimus lääketieteessä lääkeainetta luovuttavissa laitteissa sai alkunsa. (Sinha et al. 2004) Lääketieteeseen tarkoitettuja PCL monomeeria valmistavat amerikkalainen Durect, kauppanimellä Lactel<sup>R</sup> (Lactel), Iso-Britanialainen Perstorp, kauppanimellä CAPA<sup>R</sup> (Perstorp), sekä kiinalainen Shenzhen BrightChina Industrial (Shenzhen). PCL:n ominaisuuksia voidaan varioida kopolymeroimalla tai blendaamalla muiden polymeerien kanssa. Kopolymeroinnissa yhdistetään vähintään kaksi monomeeria samaan polymeeriketjuun sidoksien avulla, kun vuorostaan polymeerblendissä polymeeriketjut yhdistyvät toisiinsa ilman niitä liittäviä sidoksia. Komposiitissa yhdistyvät kaksi tai useampi materiaali, jotka toimivat yhdessä liukenematta tai sulautumatta toisiinsa. (Sperling 2006, s. 687)

### 2.1. Rakenne ja polymerisointi

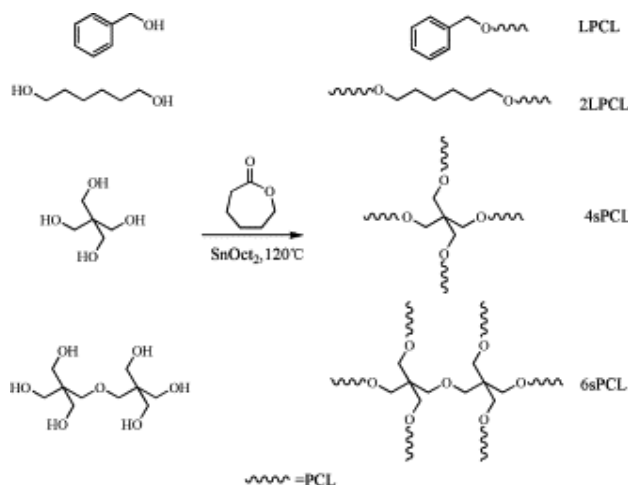
Polymeerin rakenne koostuu monomeereistä, jotka liittyvät toisiinsa kemiallisilla sidoksilla. PCL:n monomeerissä lineaariseen ketjuun on liittynyt poolinen esteriryhmä ja viisi poolitonta metyleeniryhmää. Poolisemmassa esteriryhmässä päiden varausero on suurempi kuin poolittomalla metyleeniryhmällä. Poolisuus vaikuttaa polymeerin liukenevuuteen, sillä pooliset aineet liuottavat toisia poolisia aineita. PCL on kokonaisuudessaan pooliton metyleeniryhmiensä vuoksi. (Fried 2003, s. 157)

Alla olevassa kuvassa (kuva 1) voidaan nähdä PCL-monomeerin rakennekuva. Keskimääräisen molekyylipainon ( $M_n$ ) olessa 70 000-90 000 PCL:n tiheys huoneenlämpötilassa on 1,145 g/mL. (Sigma-Aldrich 2009) Käytettyjen PCL:en  $M_n$  vaihtelee välillä 3000- 90 000 g/mol (Woodruff & Hutmacher 2010)



**Kuva 1.** PCL-monomeerin rakenne. (Sigma-Aldrich 2009)

PCL:n yleisin käytetty muoto on lineaarinen. PCL muotoa voidaan kuitenkin varioida niin kutsutuksi tähtimuodoiksi. PCL:n lisääntynyt haaroittuneisuus laskee polymeerin sulamislämpötilaa, kylmäkiteytymisen lämpötilaa sekä kiteisyyden määrää. Lisääntyneiden haarojen määrä kasvattaa polymeerin molekyylipainoa. Rakenteen tähtimuoto hidastaa polymeerin kiteistymistä jäähdytettäessä. Alla näkyvässä kuvassa (kuva 2) PCL:n lineaarisessa rakenteessa (LPCL) on yksi sivuhaara. Tähtimuodoissa voidaan haarojen määrää muuttaa neljästä (4sPCL) kuuteen (6sPCL). (Wang & Dong 2006)

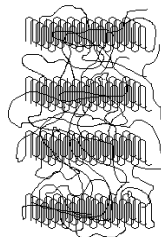


**Kuva 2.** PCL rakenteen eri muotoja lineaarisesta rakenteesta kuuden sivuhaaran rakenteeseen. (Wang & Dong 2006)

PCL:n makrorakenne on puolikiteinen polymeeri, jossa vuorottelevat järjestäytyneet, tiiviiksi pakkautuneet polymeeriketjuaalueet, -kiteet sekä amorfiset, järjestäytymättömät, löyhästi pakkautuneet alueet. (Lam et al. 2008) Nanorakenteissa, joita käytetään lääkeluovutuslaitteiden rakenteina, kiteet muodostavat viuhkamaisia sferuliittipyöreitä (Wang et al. 2009).

PCL:n kiteisyyden määrä riippuu molekyylipainosta. Kiteisyyden määrä laskee molekyylipainon lisääntyessä. Pitkät polymeeriketjut tarvitsevat pidemmän ajan

lämpöliikkumiseen (englanniksi reptation), joka muodostaa kiteitä. Pitkien ketjujen päiden silmukat estävät myös kiteiden lamellarakenteiden paksuuntumisen. Keskimääräisen molekyylipainon ollessa 63 500 g/mol, rakenteessa on puolet kiteistä ja puolet amorfista aluetta, kuten alla olevassa kuvassa (kuva 3) on piirroksen avulla kuvattu. (Jenkins & Harrison 2006)

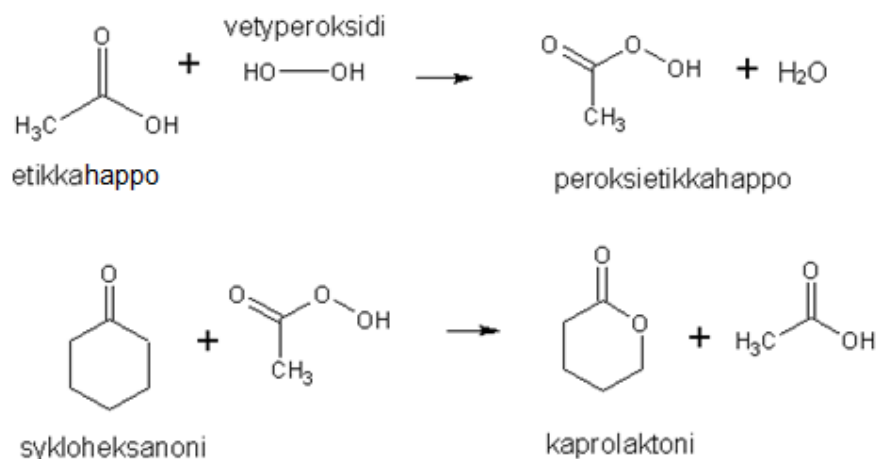


**Kuva 3.** Puolikiteisen polymeerin rakenne, jossa vuorottelevat löyhästi pakkautunut amorfisen alue ja tiiviisti pakkautunut kiderakenne (Polymer chemistry).

PCL ei liukene veteen, mutta polymeeri turpoaa vedessä. Rakenne läpäisee vettä ja pienikokoisia molekyylejä, joiden koko on alle 400 g/mol. Makromolekyyleistä proteiinit pääsevät kulkeutumaan PCL:n rakenteen läpi. (Youan et al. 1999)

### 2.1.1. Polymerointi

PCL polymeroidaan  $\epsilon$ -kaprolaktonista. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) nimeämisen mukaan  $\epsilon$ -kaprolaktoni on oktapaani-2-yksi.  $\epsilon$ -kaprolaktoni monomeeri valmistetaan sykloheksanonin ja peroksietikkahapon ( $\text{CH}_3\text{COOOH}$ ) reaktiossa. Syntyy syklinen laktoni, jossa asyyliiryhmän viereiseen hiileen on kiinnittynyt happiatomi. Kaprolaktonin valmistus ja rakennekuva on esitelty kuvan neljä reaktiokaavassa. Kuvan ensimmäisessä osassa peroksietikkahappo syntyy etikkahapon ja vetyperoksidin reaktiossa.



**Kuva 4.** Kaprolaktonimonomeerin valmistus. (Muokattu, Solvay)

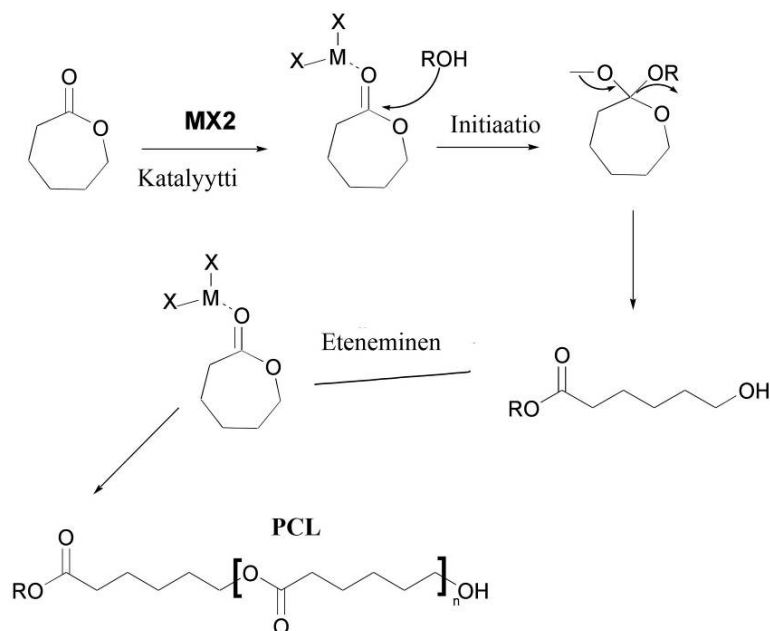
PCL:n polymeroinnissa voidaan vaihdella monia eri tekijöitä, jotta saadaan valmistettua haluttu muoto, molekyylipaino ja molekyylijakauma (Sinha et al. 2004). Materiaali voidaan valmistaa kationisella polymeroinnilla, anionisella polymeroinnilla, vapaa radikaalipolymeroinnilla tai koordinaatiopolymeroinnilla. (Gough & Christian 2008) Yleisimpänä valmistusmekanismina pidetään kaprolaktonin renkaanavautumista. Renkaanavautumisreaktiossa (ROP) on käytetty monia eri initiaattoreita, joista yleisimpiä ovat metallialkoksidit. Alkyyli­metalliyhdisteet, kuten alkyyialumiini, -tina ja -lantanidioksidi eli harvinainen maametalli ovat olleet tutkimuksen kohteena. Initiaattorilla tarkoitetaan lisäainetta, jota tarvitaan käynnistämään polymerointi. (Vivas & Contreras 2002)

Molekyylipainoa voidaan säädellä renkaanavautumisreaktion aikana vaihtelemalla initiaattorin ja monomeerin suhdetta. Vähentämällä monomeeri/initiaattori-suhdetta syntyy pienempi molekyylipainoista polymeeriä tiettyyn raja­an saakka. (Vivas & Contreras 2002) PCL:n monihaaraisia rakenteita voidaan polymerisoida käyttämällä hydroksyyli­ryhmän (-OH) sisältäviä yhdisteitä tai primäärialkoholeja initiaattoreina (Wang & Dong 2006).

Reaktion katalyytteinä on käytetty useita metalliorganisia ja metallisia aineita, kuten tina-2-etyyliheksanoaattia (Sn(Oct)<sub>2</sub>), tetrafenyylitinaa ((C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>Sn) ja tina-2-kloridia (SnCl<sub>2</sub>). Lipaaseilla voidaan myös katalysoida ROP:a. (Jerome & Lecomte 2008) Katalyyttejä käytetään aloittamaan tai nopeuttamaan polymerointireaktiota. Ne eivät kulu reaktiossa, kuten initiaattorit. (Herranne et al. 2006)

Seuraavan sivun kuvassa (kuva 5) voidaan nähdä ROP:n eri vaiheet. Laktonirenkaassa hiileen kaksoissidoksella sitoutunut happiatomi luovuttaa elektronin ja muodostaa kompleksin initiaattorin kanssa. Seuraavassa vaiheessa asyyli­ryhmän hapen kaksoissidos katkeaa. Initiaattori kiinnittyy laktonirenkaaseen, jolloin

rengasrakenne avautuu. Polymeroinnin etenemisvaiheessa monomeeri kiinnittyy metalli-happi-sidokseen. (Vivas & Contreras 2002)



**Kuva 5.** PCL:n renkaanavutumismekanismi. (Muokattu, Solvay)

Kopolymeroinnin yhteydessä voidaan käyttää myös koinitiaattoreita. Syklisen estereiden polymeroinnissa käytetty tina-2-etyyliheksanoaatti ( $Sn(Oct)_2$ ) reagoi ensin hydroksyyli ryhmän sisältävän seoksen kanssa. Muodostuu tina-2-alkoksidi, joka toimii varsinaisena initiaattorina. Lisäämällä seokseen sekundääributanoli ( $C_4H_9OH$ ) tai muu alkoholi koinitiaattoriksi, saadaan nopeutettua reaktiota. Käytetty alkoholi määrää syntyneen polymeerin muodon. Alkoholit, joilla on yksi tai kaksi reaktiivista kohtaa, muodostavat lineaarista PCL:ia. Useammalla reaktiivisella paikalla voidaan valmistaa tähdenmuotoisia polymeerejä, joiden rakennekuvia on esitetty edellä kuvassa kaksi. (Korhonen et al. 2001)  $\epsilon$ -kaprolaktoni/DL-laktidi-kopolymeerin ROP:n vaiheessa glyserolia voidaan käyttää koinitiaattorina  $Sn(Oct)_2$  kanssa (Rich et al. 2002).

## 2.2. Hajoaminen

Kirjallisuudessa biohajoavan polymeerin hajoamisaika voidaan määrittellä ajaksi, jolloin polymeeri menettää mekaaniset tai funktionaaliset ominaisuutensa tai ajaksi, jonka polymeeri tarvitsee poistuaan kehosta (Sinha et al. 2004; Sun et al. 2006). Hajoamisen ensimmäistä vaihetta voidaan kutsua bioeroosioksi. Tällöin polymeerin rakenteeseen tulee makroskooppisia muutoksia, jotka johtavat fysiologisiin sekä mekaanisiin muutoksiin. Turpoaminen, muodonmuutokset sekä painonlasku ovat esimerkkejä tällaisista muutoksista. Bioresorptio on kokonaisvaltaisempi määritelmä hajoamiselle. Bioresorptio käsittää polymeerin hajoamiseen kuuluvat tapahtumat sekä

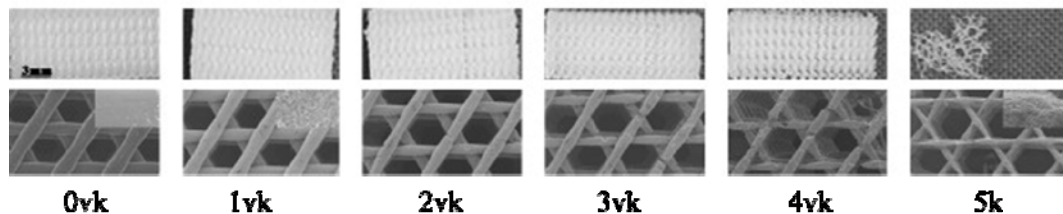
kiinteän aineen imeytymisen verenkiertoon ilman haitallisia sivuvaikutuksia. (William 1999, s 43)

### 2.2.1. Polykaprolaktonin hajoaminen elimistössä

PCL:sta on valmistettu lääkettäluovuttavia implantteja, jotka säilyttävät funktionaalisuutensa vuoden ajan tai jopa pidempään (Sun et al. 2006). Suuremman molekyylipainon PCL:eilla täydellinen hajoaminen on kestänyt 2-4 vuotta (Woodruff & Hutmacher 2010) Hajoamisnopeuden säätäminen on hankalaa PCL:n kiteisyyden ja hydrofobisen pääketjun takia. (Sinha et al. 2004) Kiteisyyden lisääntyessä hajoamisnopeus lisääntyy. PCL:n puolikiteisessä rakenteessa hajoaminen alkaa amorfisilta alueilta, sillä vesi pääsee helpommin vaikuttamaan näihin löyhemmin pakkaantuneisiin polymeeriketjuihin ja jatkuu myöhemmin kiteisillä alueilla.

Hajoamisen ensimmäisen vaiheen esterisidosten katkeamiseen vaikuttaa kuinka hyvin vesi pääsee absorpoitumaan materiaalin sisään. Lisääntynyt kiteisyys lisää materiaalin hydrofobisuutta. Ensimmäisen puolen vuoden aikana hajotessaan PCL ei merkittävästi menetä mekaanisia ominaisuuksiaan. Materiaalin jäykkyys lisääntyy ja lujuus laskee hajoamisen edetessä. Erään lähteen mukaan PCL on lopullisesti metabolisoitunut elimistöstä kahden vuoden kuluttua. (Jenkins & Harrison 2006)

PCL:n hajoamista on tutkittu solun tai organismin ulkopuolisissa *in vitro*- ja solun tai organismin sisäisissä *in vivo* -kokeissa (Chen et al. 2000; Yeo et al. 2007). *In vitro* kokeissa on käytetty fysiologisia olosuhteita jäljitteleviä liuoksia ja PCL:n hitaan hajoamisen vuoksi hajoamista nopeuttavissa liuoksissa. Nopeutetuissa kokeissa on käytetty entsyymejä sisältäviä liuoksia ja eri vahvuisia NaOH-liuoksia. (Pastorino et al. 2004; Lam et al. 2008; Kulkarni et al. 2008,). Lam et al. (2008) käytti nopeutettua sekä fysiologisia olosuhteita stimuloivia menetelmiä tutkiessaan PCL-komposiitin hajoamista. Hänen tutkimusryhmänsä huomasiivat komposiittirakenteen hajoavan enemmän pinnasta nopeutetussa kokeessa kun vuorostaan fysiologisia olosuhteita stimuloivassa tilanteessa rakenne hajosi enemmän bulkkihajoamistapahtumien kautta. Pintahajoaminen johtuu ympäröivän nesteen hitaasta diffuusiosta rakenteen sisään verrattuna polymeerin sisällä tapahtuvaan hydrolyysiin. Alla olevassa kuvasarjassa (kuva 6) on esitetty kuiduista valmistetun skaffoldin hajoaminen nopeutetussa *in vitro*-hajoamissarjassa. Hajoamisen edetessä kuitujen halkaisijat pienenivät homogeenisesti. (Lam et al. 2008)



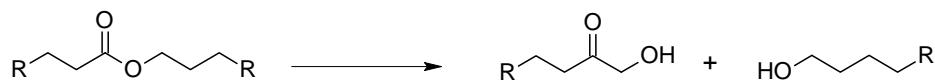
**Kuva 6.** Viiden viikon *in vitro*-hajoamiskokeen aikana havainnoidut kuitujen makro- ja mikroskooppiset muutokset. (Muokattu Lam et al. 2008)



Bulkkihajoamisessa neste kulkeutuu koko polymeerin läpi, jolloin tapahtuu satunnaisia hydrolyyttisiä sidosten katkeamisia polymeerimatriisiin sisällä. Muodostuneet oligomeerit ja monomeerit jäävät rakenteen sisälle ja hajoamisen sivutuotteet pääsevät diffundoitumaan ympäröivään nesteeseen. Lam et al. (2008) piti mahdollisena rakenteen uudelleenkiteytymistä hajoamisen edetessä. Alhainen lasisiirtymälämpötila ja puolikiteinen rakenne, joka pyrkii alhaiseen termodynaamiseen tasapainoon, mahdollistavat ketjujen liikkumisen 37°C lämpötilassa. (Lam et al. 2008)

*In vivo* -olosuhteissa PCL:n on huomioitu hajoavan nopeammin, mikä viittaa plasman entsyymien osallistuvan ketjujen pilkkomiseen. Ihmisen plasmassa on haiman karboksyyliesterilipaasia  $1,2 \pm 0,5$  ng/mL. Muita lipaasin kaltaisia entsyymejä, jotka osallistuvat polyestereiden pilkkomiseen ovat *Rhizopus delemer*, *Rhizopus arrhizus*, *Humicola lanuginosa* ja *Pseudomonas cepacia* lipaasit. (Herzog et al. 2006) PCL-ketjun päiden karboksyyli- ja hydroksyyliyhymien konsentraatio tai pääteryhmien notkeus vaikuttavat entsyymien aktiivisuuteen. Vuorovaikutuksesta syntyy polymeerin ja entsyymin kompleksi, joka lopulta johtaa satunnaiseen ketjun pilkkoutumiseen. Kompleksin muodostuminen tarvitsee joustavan polymeeriketjun, joten entsyymien vaikutus on voimakkaampi lyhyemmillä polymeeriketjuilla. (Herzog et al. 2006) *In vitro*- ja *in vivo* -kokeiden eroista samalla materiaalilla kertoo Yeo et al. (2007) tekemä tutkimus PCL-β-TCP kudosteknologisille kasvatusalustoille. Kokeessa hän huomasi *in vivo* -olosuhteissa 24 viikon jälkeen huokoisuuden lisääntyneen 29 % ja painokeskimääräisen molekyylipainon ( $M_w$ ) laskeneen 79 %. Myös kasvatusalustan rakenne oli romahtanut. Vastaavat tulokset *in vitro* -kokeille olivat huokoisuuden lisääntyminen 3 %:lla,  $M_w$ :n lasku 29 %:lla ja rakenteen pysyminen ennallaan. (Yeo et al. 2007) Entsyymaattiseen hydrolyysiin vaikuttavat entsyymien pitoisuudet, lämpötila ja ympäröivän veden määrä (Darwis et al. 1998; Pastorino et al. 2004).

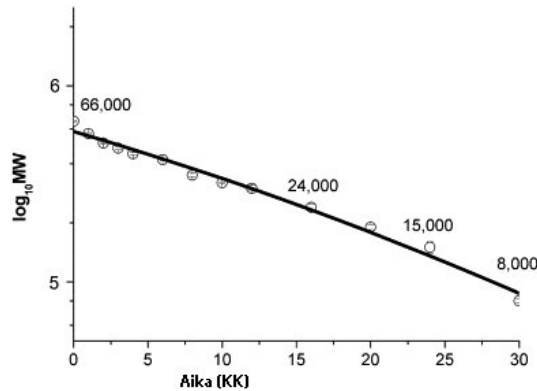
PCL:n hydrolyyttinen hajoaminen voidaan jakaa kahteen peräkkäiseen tapahtumaan. Polymeerin hajoaminen alkaa satunnaisella hydrolyysillä ketjun esterisidoksista. Syntyy happo ja alkoholi, jotka nähdään alla olevassa reaktiossa (kuva7). Ensimmäisen vaiheen hajoamisnopeus noudattaa ensimmäisen kertaluvun kinetiikkaa. (Pitt 1990, s. 71)



**Kuva 7.** PCL:n hydrolyysi, jolloin syntyy happo ja alkoholi. (Muokattu Gough & Christian 2008)

Kuva 8 esittää PCL/F68 lääkeluovutus implantin hajoamisen 2,5:en vuoden *In vivo* -kokeessa. F68 on seos, joka sisältää FDA:n hyväksymää levonorgestrel-ehkäisyvalmistetta (LNG). Kuvaaja muodostaa eksponentiaalisen kuvaajan moolimassan logaritmin ja ajan mukaan. (Sun et al. 2006) PCL partikkeleiden ja levyjen

hajoamisnopeudessa ei ole todettu olevan eroa. Tämä viittaa polymeerin tasaiseen hajoamiseen (Chen et al. 2000)



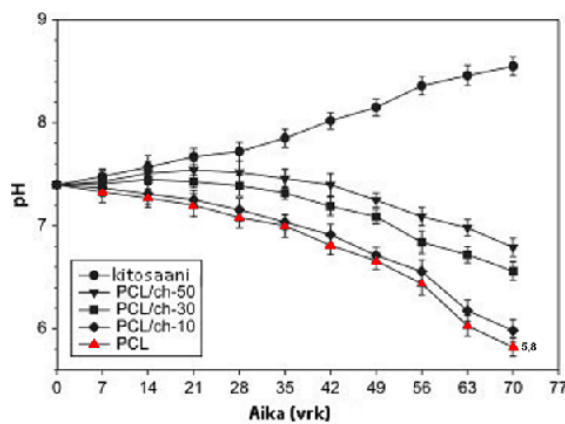
**Kuva 8.** Molekyylipainon muutos ajan suhteen *in vivo* -kokeessa. (Muokattu Sun et al. 2006)

PCL:n hajoamisen toinen vaihe alkaa kun molekyylipaino on pudonnut 5000 g/mol:een. Ketjujen pilkkoutumisen myötä syntyneet pienemmät polymeeriketjun osat pääsevät diffundoitumaan polymeerin keskeltä ympäröivään kudokseen. Osat hajoavat edelleen pieniksi partikkeleiksi, joita fagosyytit eli syöjäsolut poistavat elimistöstä. Näin ollen polymeerin massa alkaa pienentyä ja esterisidosten katkeaminen hidastua. Polymeeri menettää myös mekaanisen lujuutensa tässä vaiheessa. (Sinha et al. 2004) Makrofagien ja jättisolujen aineenvaihdunnan tuotoksena syntyy 6-hydroksyylikapronihappoa ja asetyylikoentsyymiä, jotka poistuvat elimistöstä sitruunahappokierron myötä (Woodruff & Hutmacher 2010).

Hajoamisen sivutuotteita voivat olla hydroksyyli- ja karboksyylipääteryhmät. Muodostuneet karboksyylihapot katalysoivat hydrolyysiä. Toisaalta bulkkihajoamisessa rakenteen sisään jääneet oligomeerit ja monomeerit eivät pääse diffundoitumaan ympäröivään kudokseen. Karboksyylihapo voi muodostaa konsentraatiogradientin sisäosan ja pinnan välille. Polymeerin keskellä hydrolyysi kiihtyy karboksyylihapon autokatalysoidessa hajoamista. Polymeeri ei hajoa tasaisesti, vaan siihen muodostuu suurempi molekyylipainoinen kuorikerros ytimen ympärille. Autokatalyysillä on myös haittapuolensa. Polymeerin sisällä olevien oligomeerien pienentyessä ne saattavat läpäistä polymeerin kuorikerroksen yhtä aikaa ja aiheuttaa kehon inflammatorisen vasteen. (Lam et al. 2008). Monomeereillä voi tapahtua ketjunpään katkeamista (Hertzog et al. 2006).

Hajoamistuotteina syntyy myrkyttömiä veteen liukenevia oligomeereja (Heranne et al. 2006). Lopulliset hajoamistuotteet ovat hiilidioksidia ( $\text{CO}_2$ ) ja vettä ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

Lääketieteellisissä sovellutuksissa polylaktidiin verrattuna hajoamistuotteet ovat emäksisempiä, eivätkä aiheuta pitkittynyttä negatiivista kudostavastetta (Gough & Christian 2008). 70 vuorokauden jälkeen hajoamistuotteet ovat laskeneet ympäröivän viljelymediumin pH:n 5,8:aan. Seostamalla tai kopolymeroimalla PCL:a, voidaan pH:ta saada nostettua lähemmäksi toivottua neutraalia tasoa. Kitosaanilla voidaan parantaa hajoamistuotteiden emäksisyyttä, kuten alla olevassa kuvaajassa (kuva 9) nähdään. (Wan et al. 2008)

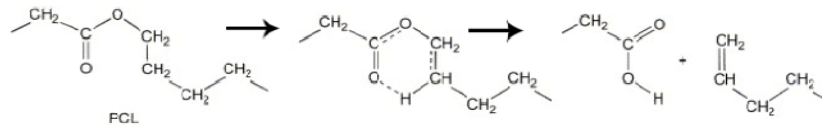


**Kuva 9.** Hajoamistuotteiden vaikutus ympäröivään viljelyneesteeseen *in vivo* -kokeissa. (Muokattu Wan et al. 2008)

### 2.2.2. Polykaprolaktonin muut hajoamisprosessit

PCL:in termisessä hajoamisessa on kaksi vaihetta. Ensimmäisessä vaiheessa polyesteriketjut rikkoutuvat pyrolyysissä eli korkeassa lämpötilassa esterisidosten kohdalta. Toisessa vaiheessa ketjut avautuvat ja muodostuu syklistä  $\epsilon$ -kaprolaktoni-monomeeriä. PCL:n terminen hajoaminen tuottaa lopulta vesihöyryä ( $\text{H}_2\text{O}$ ), hiilidioksidia ( $\text{CO}_2$ ) ja 5-heksaanihappoa. (Draye et al. 2001)

Valon aiheuttama aineen kemiallinen hajoaminen eli fotolyysi pilkkoo PCL:n ketjuja samanaikaisesti amorfisilta ja kiteisiltä alueilta. PCL-kalvojen fotolyysitutkimuksissa on käytetty ultraviolettivaloa (UV). Fotolyysi tapahtuu polymeerin pääketjun pilkkoutumisena Norrish II-mekanismilla. PCL-ketjun karbonyyliryhmän hiileen kiinnittyy vetyatomi  $\gamma$ -asemassa. Ketju katkeaa ja toiseen osaan muodostuu kaksi kaksoisidoksella toisiinsa kiinnittynyttä metyleeniryhmää. (Tsuji et al. 2006) Alla olevassa kuvassa 10 on esitetty Norrish II-hajoaminen.



**Kuva 10.** PCL:n fotolyyttinen hajoaminen Norrish II-mekanismilla. (Muokattu Tsuji et al. 2006)

Fotolyysin seurauksen PCL:n molekyylipaino laskee. Tarkemmin PCL:n lukukeskimääräinen molekyylipaino  $M_n$  laskee vain vähän verrattuna  $M_w/M_n$ -suhteen nousuun.  $M_n$  laski Tsuji et al. (2006) toteuttaman kokeen aikana 53%:ia. Materiaalin mekaaniset ominaisuudet pysyivät muuttumattomina 200 tunnin UV kokeen aikana. Hydrolyysin aikana pilkkoutumista tapahtuu enemmän amorfisilta alueilta, joka alentaa PCL:n mekaanisia ominaisuuksia huomattavasti enemmän kuin molemmilla alueilla samanaikaisesti tapahtuva pilkkoutuminen. PCL:n elastisuus katosi kokeen aikana lähes kokonaan. (Tsuji et al. 2006)

PCL:a voidaan käyttää kompostoitavissa tuotteissa, jolloin hajoaminen tapahtuu muussa ympäristössä kuin kehossa. Kompostissa, merivedessä, maaperässä ja sieniviljelmissä entsyymit hajoittavat polymeeriketjuja. Entsyymaattinen hydrolyysi tapahtuu PCL:n esterisidoksista. (Rudnik 2008, s. 79)

### 2.3. Prosessointi

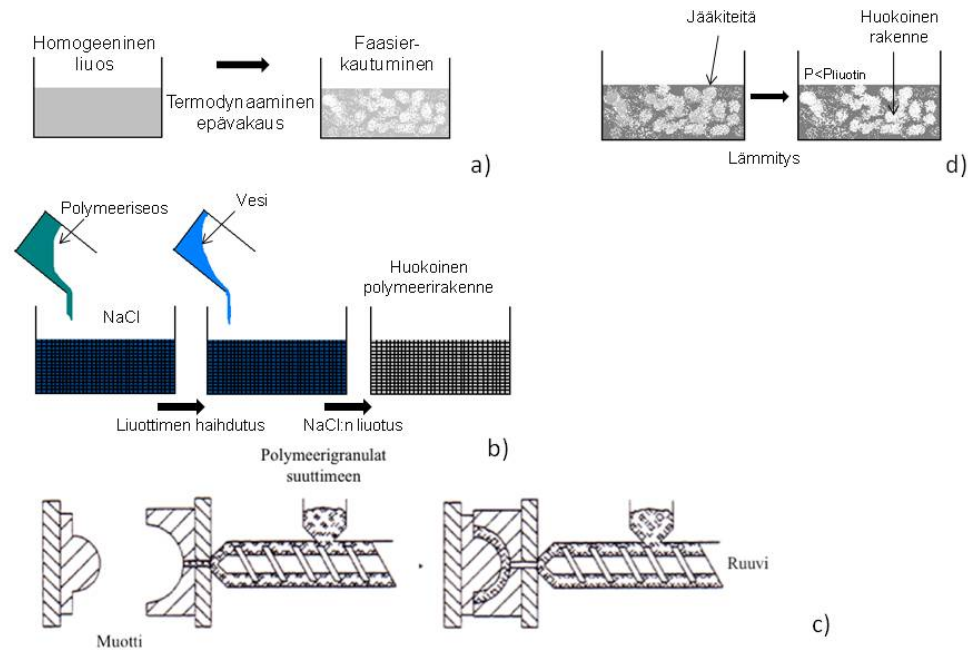
PCL:ää voidaan prosessoida lämpötilan alueella sulamislämpötilasta 60°C:stä hajoamislämpötilaan eli 350°C:een. Prosessoinnin aikana tapahtuvaa hydrolyyttistä hajoamista voidaan estää kuivaamalla polymeeri ennen käsittelyä. (Perrin 1997, s. 63)

Kudosteknologisia solukasvatusalustoja on valmistettu ekstruusiolla (Shor et al. 2007), liuotINVALulla (Tang et al. 2004), ruiskuvalulla (Matzinos et al. 2002), faasierottelulla (Yen et al. 2009) ja kylmäkuivauksella (Abdelwahed et al. 2005). PCL-kuituja on valmistettu märkäkehrulla ja painovoimakehrulla (Williamson et al. 2006). Eri SFF-menetelmissä (solid freeform fabrication) tarkoin fokusoidulla energialla muodostetaan polymeerisulasta kiinteä kappale.

FDM:ssä (Fused deposition modelling), kolmiulotteista tulostuksessa (three dimensional printing, 3DP) ja SLS:ssä (selective laser sintering) piirretään ensin CAD – ohjelman (computer assisted design) avulla halutun huokoisen rakenteen malli (Tay et al. 2007; Lam et al. 2008,). Etuna SFF-menetelmissä on sen myrkyttömyys, sillä valmistusvaiheessa ei tarvita liuottimia. (Tay et al. 2007).

Lääkeluovutuslaitteiden polymeerimatriisi ja lääkeaine voidaan sekoittaa sulapuristusmenetelmässä jo prosessoinnin alkuvaiheessa (Sprockel et al. 1997). Ruiskuvalun ensimmäisessä vaiheessa polymeerigranulat syötetään suppiloon, joka on esitetty kuvassa 11 kohdassa c. Sylinterin sisällä polymeeri kuumennetaan pehmeäksi massaksi, jota kuljettaa eteenpäin ruuvi. Polymeeri homogenisoituu ja puristuu ulos suutimen päästä muottiin. PCL/tärkkelys seoksen kanssa käytetty lämpötilaprofiili oli 140/150/160 °C. Injektointipaine oli 90 bar:a. (Matzinos et al. 2002)

Faasierottelulla voidaan valmistaa nanohuokoinen kalvo lääkeluovutuslaitteeseen. Nanohuokosen halkaisija on noin 20 nm. PCL liuotetaan sopivaan ohennusaineeseen, lämmitetään ja homogenisoidaan ennen valuttamista polytetrafluorieteeni (PTFE) levyille. Monikomponenttisisä polymeerissä tietyissä olosuhteissa eri faasit pyrkivät erottumaan toisistaan. Faasierottelu voidaan saada aikaiseksi esimerkiksi (kuva 11a) muuttamalla systeemien lämpötiloja, jolloin termodynaaminen tasapaino muuttuu ja faasit erkanevat toisistaan. Orgaaniset liuottimen jäännökset pestään vedellä. (Yen et al. 2009; Puppi et al. 2010).



**Kuva 11.** Prosessointimenetelmiä: a) faasierottelu, jossa kaksi eri faasia saadaan erkanemaan toisistaan termodynaamisen epätasapainon avulla b) liuotinpartikkelivalu, jossa ensimmäisessä vaiheessa annetaan polymeeriseoksen joukkoon sekoitetun liuottimen haihtua ennen kuin huokoisuuden mahdollistavat partikkelit liuotetaan pois rakenteesta (muokattu Puppi et al. 2010) c) Sulapuristuslaitteen kaaviokuva, jossa polymeerisula ruiskutetaan muottiin ja ahtopuristetaan lopulliseen muotoonsa paineen avulla. (muokattu Muovi- ja elastomeeritekniikka TTY)

PCL voidaan liuottaa liuotinvalussa (kuva 11b) kloroformiin ( $\text{CHCl}_3$ ), tetrahydrofuraaniin (THF,  $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ ), asetoniin ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) tai etyyliasetaattiin ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ). Liuotinvalulla voidaan valmistaa huokoisia levyjä. Liotin haihtuu polymeeristä jättäen jälkeensä huokoisen rakenteen. Hiiren fibroblasteilla tehdyissä solukokeissa solut viihtyivät kyseisistä vaihtoehdoista parhaiten etyyliasetaatilla valmistetulla PCL-levyllä. (Tang et al. 2004) Liuotinvalua voidaan yhdistää partikkelivalun kanssa, jolloin liuotinpolymeeriseos kaadetaan huokoiselle pedille, jossa on valmiiksi huokoisuuden mahdollistavia partikkeleita. Rakenteen huokoistavina partikkeleina voidaan käyttää epäorgaanisia suoloja, kuten natriumkloridia ( $\text{NaCl}$ ) tai sakaroosikiteitä ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ). (Puppi et al. 2010) Partikkelivalun ongelmana on huokoskoon tasaisuus ja niiden välinen yhteys (Woodruff & Hutmacher 2010)

Kylmäkuivausta on käytetty paljon prosessoitaessa lääkettäluovuttavia laitteita. Kylmän avulla voidaan parantaa monien lääkevalmisteiden, kuten virusten, peptidien ja proteiinien säilyvyyttä. Nanopartikkelit tai lääkekapselit valmistetaan toisella

prosessointimenetelmällä ennen kylmäkuivausta. (Abdelwahed et al. 2006) Kylmäkuivaus tapahtuu kolmessa eri vaiheessa; jäädyttäminen, ensijainen kuivaus ja toissijainen kuivaus. Jäädysvaiheessa polymeeriseoksen lämpötila lasketaan niin alas, että materiaalin sisään alkaa muodostua jääkiteitä. Seuraavassa vaiheessa osittainen tyhjiö saadaan aikaiseksi alentamalla ilmanpainetta alle liuottimen tasapainon höyrynpaineen. Lämmityksen aikana liuotin sublimoituu polymeeristä. Jääkiteiden sublimoiduttua muuttuu rakennne huokoiseksi. Viimeisessä vaiheessa poistetaan rakenteeseen imeytynyt vesi. Kuivatussa polymeerissä on kylmäkuivauksen jälkeen pienentynyt vesipitoisuus, joka estää mikro-organismien ja entsyymien materiaalia hajottavan toiminnan. (Abdelwahed et al. 2006; Puppi et al. 2010)

## 2.4. Kopolymerointi, blendaus ja komposiitit

PCL:n kemiallinen rakenne edesauttaa yhdistymistä monien polymeerien kanssa. PCL:in ja poly( $\alpha$ -hydroksihappojen) kopolymeereillä voidaan nopeuttaa hajoamista ja parantaa homopolymeerien prosessoitavuutta. Ongelmana ovat olleet kopolymeerien heikot mekaaniset ominaisuudet. (Puppi et al. 2010)

Kopolymeroinnissa tulee ottaa huomioon monomeerien reaktiivisuudet. Esimerkiksi  $\epsilon$ -kaprolaktonin ( $\epsilon$ -CL) ja laktidin (LA) kopolymeroinnissa LA-monomeerit kuluvat nopeammin polymerisoinnin alussa muodostaen lohkopolymeeri mikrorakenteen, missä on enemmän LA-monomeerejä. CL:in liittymisreaktio LA:in on heikompi kuin LA:n liittyminen CL:iin. PCL:a sisältäviä lohkokopolymeerejä voidaan valmistaa lisäämällä LA:a PCL:in peräkkäisinä reaktioina. Initiaattorina voidaan käyttää  $\text{Al}(\text{OPr})_3$  tai PCL-homopolymeerejä joiden pääteryhmät ovat funktionalisoitu hydroksyyli-ryhmällä. (Södergård & Stolt 2002)  $\epsilon$ -CL:n ja LA:n satunnaisia ja lohkopolymeerejä on tutkittu lääketäluovuttavissa laitteissa. Tinaa sisältävää oktoaattia on käytetty katalyyttinä kopolymeroinnissa, sillä se ei ole myrkyllinen ja sitä käytetään myös ruuan lisäaineena. 80 painoprosenttia (wt%)  $\epsilon$ -CL sisältävällä kopolymeerillä oli osittain kiteinen rakenne. Alhaisemmilla  $\epsilon$ -CL määrillä kopolymeerin rakenne oli täysin amorfinen. (Hiljanen-Vainio 1996) Dilohkokopolymeeri voidaan syntetisoida  $\epsilon$ -CL:ista ja monometoksyylipolyetyleeniglykolista (MPEG). Kopolymeeristä voidaan muodostaa lääkeluovutuslaitteita, joissa on PEG:ista muodostunut hydrofiilinen ulkokuori ja PCL:ista muodostunut hydrofobinen ydin. Hydrofobiset lääkeaineet sidotaan nanopartikkelien sisälle kovalenttisella sidoksella. Lääkeaineden lisäksi tällaiseen rakenteella voidaan kuljettaa kehon sisään proteiineja ja ei viruspohjaisia geenejä, esimerkiksi plasmidin DNA:ta. PCL-PEG-nanopartikkeleita sisältävän hydrogeelien avulla voitaisiin mahdollisesti valmistaa suun kautta nautittava rokote. (Wei et al. 2009)

Yhdistämällä, toisin sanoen blendaamalla, PCL muiden polymeerien kanssa voidaan parantaa polymeeriseoksen jännitysmurtumien kestoa, lyhentää hajoamisaikaa, parantaa adheesiota, lisätä prosessoitavuutta ja materiaalin värjättävyyttä. Toisaalta esimerkiksi polylaktidien haurautta ja nopeaa hajoamista voidaan muuntaa sopivammaksi lääketieteellisiin sovellutuksiin blendaamalla muita aineita PCL:n kanssa. (Matzinos et

al. 2002) PCL:a on yhdistetty muun muassa polylaktidin, selluloosapropionaatin, selluloosaasetattibutyraatin, kitosaanin ja tärkkelyksen kanssa. PCL-pohjaisia blendejä on käytetty lääkeainetta luovuttavissa laitteissa ja kudosteknologisissa sovellutuksissa. (Matzinos et al. 2002)

Polymeerimatriisiin voidaan lisätä keraamipartikkeleita tai –kuituja sekä luonnossa esiintyviä materiaaleja, kuten kollageenia, silkkifibroiniä, tärkkelystä tai dekstraania. Näin syntyy komposiittirakenne. Biokeraameilla voidaan neutraloida polymeerien happamia hajoamistuotteita ja säädellä komposiitin hajoamisnopeutta. Kollageenin lisääminen PCL:ään lisää materiaalin entsymaattista hajoamista. (Gough & Christian 2008) Hydroksiapatiittien (HA) lisäys nopeuttaa huomattavasti polymeeriseoksen hajoamisnopeutta estämällä kiderakenteiden muodostumisen, nostamalla materiaalin hydrofiilisyyttä ja lisäämällä materiaalin sisällä olevia HA-kiteiden ja sitä ympäröivän polymeerin kosketuspintoja. (Ang et al. 2007) Kitiini kuitujen lisääminen PCL-matriisiin parantaa vetolujuutta ja taivutuslujuutta. PCL:n ja kitiinikuidut eivät kuitenkaan kiinnittyneet toisiinsa joten tutkimuksessa valmistetun komposiitin rakenne oli hauras. (Chen & Sun 2005)

## 2.5. Käyttökohteet lääketieteessä

PCL:illa on useita käyttökohteita niin lääketieteessä kuin myös muissa käyttökohteissa. PCL hajoaa hitaasti ja pienet molekyylit pääsevät kulkeutumaan rakenteen läpi helposti. Näiden ominaisuuksien vuoksi lääkettä luovuttavat implantit ovat olleet yksi mielenkiintoisimmista PCL:n käyttökohteista lääketieteessä. Implanttiin sekoitetaan lääkeainetta valmistusvaiheessa tai sen jälkeen. Kun implantti asetetaan kehossa haluttuun kohtaan, lääkkeen teho on voimakkaampaa, sillä se ei ole joutunut ensin vaeltamaan kehossa oikeaan vaikutuskohtaansa. Toinen etu tällaisella implantilla on sen pitkäaikaisvaikutus. Nano- ja mikropartikkeleihin, sekä kuituihin voidaan lisätä monia eri lääkeaineita, kuten proteiineja, peptidejä, rokkotteita, antibiootteja, kasvutekijöitä ja insuliinia. (Perrin 1997, s. 76; Sinha et al. 2004)

Markkinoilla olevia PCL-pohjaisia lääketieteellisiä tuotteita ovat biohajoavat ommellangat tuotemerkillä Monocryl<sup>TM</sup>, niveltyynyt rekisteröidyillä merkeillä: Artelon<sup>R</sup> STT-spacer, Artelon<sup>R</sup> LG ja Artelon<sup>R</sup> CMC-spacer Arthro, sekä hammasjuuren täyteaineet rekisteröidyillä merkillä Resilon<sup>R</sup> (Ethicon, Sbi inc, Alani et al. 2009). Monocryl on Ethicon yhtiön tuotemerkki. Glykodin ja  $\epsilon$ -kaprolaktonin kopolymeeristä valmistetut suturat eli biohajoavat ommellangat, hydrolysoituvat noin kolmen kuukauden päästä paikoilleen asettamisen jälkeen. Pehmeän kudoksen ompeluun tarkoitetut langat säilyttävät vetolujuutensa kahdesta kuuteen viikkoon. (Perrin 1997, s. 77) Artelon-spacer<sup>R</sup> tuotesarjassa PCL-pohjaisista polyuretaaniureakuiduista on valmistettu käden eri nivelpintojen rustokadon hoitoon tarkoitettuja tyynyjä. Niiden avulla voidaan vakauttaa nivelpinnat ja parantaa sormien ja muiden käden nivelten liikkuvuutta. Kivunlievitys on myös yksi syy hoitaa vaurioitunutta nivelpintaa. (Sbi inc) Niveltyynyjen materiaalia on tutkittu eläin- ja kliinisissä *in vivo*-kokeissa. Materiaali



todettiin yhteensopivaksi elävän kudoksen kanssa. Pienessä osassa hoidoista potilaille asetettujen Artelon<sup>R</sup> niveltynyjen kanssa on huomioitu nivelkalvontulehdusta ja muita vierasesinereaktioita. Uusintaleikkauksissa on jouduttu poistamaan niveltynyjä vaikeiden infektoiden takia. (Choung & Tan 2008)

Resilon<sup>R</sup>-hammasjuuren täyteaineen matriisina toimii PCL. Toisena komposiitti vaihtoehtona hammaslääketieteessä on PCL:n ja fosfaattilasin yhdistelmä. Hammaslääketieteessä juurihoidoissa käytetään useasti täyteaineena guttaperkaelastomeeria. Resilon toimii kuten guttaperka; röntgenopaakkisuus, bioyhteensopivuus, helppous käsitellä ja eristävyys ovat molempien aineiden hyviä puolia. Lasin lisääminen PCL:ään parantaisi eristysominaisuutta vapauttamalla ioneja, jotka muodostavat saostumaa. Juuren täyteinen tulee estää bakteerien ja mikrobien pääsy juuren sisään. (Alani et al. 2009)

PCL homopolymeeristä, kopolymeereistä ja blendeistä on valmistettu kudosteknologisia kasvatusalustoja luulle, hermoille, ruokatorvelle ja pehmytkudoksille. Näissä sovellutuksissa on useammin käytetty kopolymeerejä tai blendejä kuin homogeenistä PCL:ää. Luun uudelleen muodostumista ohjaavissa kasvatusalustoissa on PCL:n lisätty trikalsiumfosfaattia (βTCP) (Lei et al. 2007), hydroksiapatiittia (HA), bioaktiivista lasia tai muodostettu komposiitteja muun muassa PLLA:n kanssa (Guarino et al. 2008). PCL/poly-DL-laktidikopolymeeriä on käytetty hermojen uudelleenmuodostumiseen kuitumaisella tai onton putken muotoisella kudosteknologisella kasvatusalustalla. Wang et al. (2009) valmisti onttoja hermon kasvatusputkia valosilloittamalla poly(ε-kaprolaktoni)fumaraattia. (Wang et al. 2009) Fosfaattilasikuiduilla vahvistettua PCL:ää on tutkittu käytettäväksi luuydinontelossa sijaisevien murtumiin käytettyihin tankoihin, kallojen korjaukseen ja luun uudelleenmuodostumiseen (Puppi et al. 2010). Ruokatorvi koostuu nelikerroksisesta lihaskanavasta, jossa on useita solutyyppejä, kuten epiteeli- ja sileälihassoluja. PCL:n pintaa haluttiin muokata epiteelin uudelleenmuodostumista tukevaksi kollageeni IV:n avulla. Kollageeni IV on yksi tärkeimmistä rakenneproteiineista. Kollageeni saatiin kiinnittämään PCL:n pintaan poistamalla aminoryhmä orgaanisesta yhdisteestä (Zhu & Ong 2009)

Lonkkaproteesin varren kiinnittämistä voidaan parantaa käyttämällä pinnan modifiointia, luusementtiä tai pinnoitteita. Polymeerin lisääminen ennen varren paikalleenasettamista voisi parantaa proteesin kiinnittymistä. Oser et al. (1980) patentoi idean käyttää polymeerejä tähän tarkoitukseen. Polymeerien ehtoina olivat että ne ovat kudousyhteensopivia ja niitä voidaan muotoilla 45-75°C lämpötilan välillä. PCL oli yksi materiaalivaihtoehto tässä patentissa. (Oser 1980)

## 2.6. Muut käyttökohteet

PCL:ää ja sen kopolymeerejä sekä komposiitteja käytetään kompostoitavissa pusseissa ja astioissa. Ruuan kanssa kosketuksissa olevien materiaalien tulee olla myrkyttömiä ja kompostoitavien tuotteiden hajoaminen ei saa saastuttaa ympäristöä. PCL:n muita hyviä

ominaisuuksia edellä mainituissa sovellutuksissa ovat veden-, öljyn ja kloorin kestävyys sekä tärkkelyksen kanssa sekoitettaessa halpa hinta. (Bioplanet 2010)

PCL käytetään myös harrastemarkkinoilla. Polymorf<sup>TM</sup> ja Shapelock<sup>TM</sup> materiaaleja voidaan muovata 60°C lämpötilassa pienoismalliosia tai taideteoksia. Jäähdytyksen aikana osat kovettuvat. Sulatilassa PCL tarttuu toisiin polymeereihin, joten sillä voidaan korjata muovisia tuotteita. (Shapelock 2010) PCL:stä voidaan valmistaa myös synteettistä nahkaa ja kankaita (Bioplanet 2010).

### 3. POLYKAPROLAKTONIN OMINAISUUDET

PCL:n ominaisuuksia voidaan muuttaa käyttämällä eri molekyylipainoisia ja muotoisia monomeereja. PCL on joustavimpia tunnetuista synteettisistä biohajoavista polymeereistä (Tay et al. 2007). Kirjallisuudessa löytyvien mekaanisten ominaisuuksien arvot vaihtelevat riippuen käytetyn PCL:n moolimassasta, testausmenetelmästä ja olosuhteista.

#### 3.1. Mekaaniset ominaisuudet

PCL on erittäin elastinen kestopuovi, jonka murtovenymäprosentti voi olla 600-800%. Alhaisemman keskimääräisen molekyylipainon PCL:llä on pienempi venymä, joka kasvaa melko lineaarisesti molekyylipainon lisääntyessä. (Perstorp, Grosvenor & Staniforth 1996) PCL:n osittain kiteinen polymeerirakenne on luja kiteisiltä alueilta ja sitkeä amorfisilta alueilta. Rakenne muuttuu pehmeämmäksi lähestyttäessä sulamislämpötilaa. (Gowariker et al. 1986, s. 175)

PCL:n prosessoinnissa jäähdytyksen nopeudella voidaan muunnella kiteisyyden määrää (Schrauwen et al. 2003). Polymeerin kiteytyminen alkaa sulamislämpötilan ( $T_m$ ) alapuolella, kun molekyyliketjut järjestäytyvät ja laskostuvat tiiviiksi rakenteiksi amorfisen tilan keskelle. Kiteytyminen tapahtuu sulamislämpötilan ja lasisiirtymälämpötilan ( $T_g$ ) välissä. (Fried 2003, s. 153) Hitaasti jäähdytetyillä PCL:llä on lyhyempi venymä. Polymeeri muuttuu hauraammaksi ja vetolujuus laskee, sillä hitaan jäähdytyksen aikana polymeeriketjut eivät ole kietoutuneet toisiinsa yhtä tiiviisti kuin nopean jäähdytyksen aikana. Liian nopean jäähdytyksen aikana polymeeriketjut eivät ehdi kietoutumaan kiderakenteiksi ja PCL:n kiteisyysaste laskee (Grosvenor & Staniforth 1996). PCL:n murtolujuuteen vaikuttavat molekyylipaino, ketjujen haaroittuminen ja ristosilloittuminen. Pienimolekyylipainoisten polymeerien ja hitaasti jäähdytettyjen polymeerien ketjujen välille ei muodostu sidosmolekyyliä, jolloin rakenne on löyhempi ja hauraampi. (Schrauwen et al. 2003)

Vetokokeessa venymä alkaa amorfisilta alueilta, joita yhdistävät sidosmolekyylit. Liuskamaiset ketjut alkavat kallistuvat vedon suuntaan ja kiteet eroavat toisistaan. Vedon jatkuessa polymeeriketjut alkavat orientoitumaan vedon suuntaan. (Schrauwen et al. 2003) Kun puolikiteiseen polymeerirakenteeseen lisätään energiaa, hajottaa se ensin kiderakenteet. Vasta tämän jälkeen alkavat polymeeriketjut liukua toistensa ohitse. (Grosvenor & Staniforth 1996)

Vetolujuudeksi määritellään kappaaleen kestävä suurin vetojännitys. PCL:n vetolujuus kasvaa polymeerin molekyylipainon lisääntyessä. Polymeeriketjun kiteisyyden lisääntyminen, haaroittuminen tai ristosilloittuminen voivat vastaavasti

laskea vetolujuutta. (Corden et al. 2000) Isommalla molekyyllipainolla samaan tilavuuteen on pakkautunut enemmän polymeeriketjuja. Ketjut joutuvat kietoutumaan keskenään tiiviimmin. Toisaalta PCL:lla on huomioitu segmenttien pituudet kasvavan ketjujen pituuksien lisääntyessä. Lyhyempien ketjujen erottamiseen tarvitaan vähemmän aktivaatioenergiaa kuin suurimolekyyllipainoisilla PCL:eilla. Alhaisen molekyyllipainon PCL:t eivät kestä niihin kohdistuvaa voimaa vedossa, sillä niiden polymeeriketjut eivät ole riittävästi kietoutuneet toisiinsa. (Grosvenor & Staniforth 1996)

Materiaalin elastisuus tai jäykkyys voidaan ilmaista voiman aiheuttamana materiaalin muodonmuutoksena. PCL:n elastisuus katoaa pienen molekyyllipainon polymeereillä ja materiaali muuttuu hauraaksi. Steriloidulla PCL:lla, PCL komposiiteilla ja kopolymeereillä on tapahtunut suuria muutoksia elastisuudessa (Chen & Sun 2005, Jung et al. 2008).

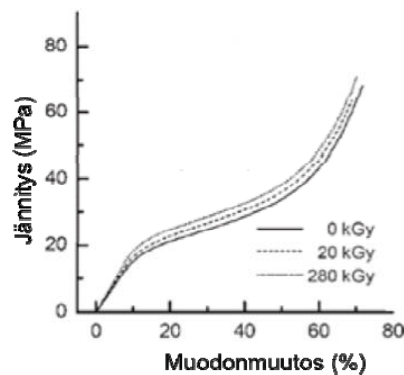
Kimmokertoimella tarkoitetaan aineen kykyä palautua venytyksestä, puristuksesta tai väännöstä. Mitä suurempi kimmokertoimen arvo on, sitä pienempi vaikutus voimalla on kappaleen muotoon ja tilavuuteen. Lämpötilan noustessa alkaa pehmenevä tila, jolloin polymeerin kimmokerroin pienenee. Polymeeriketjujen ristisilloittuminen nostaa kimmokerrointa. (Valuatlas 2010) Vedon kimmokerrointa kutsutaan Youngin moduuliksi ja puristuskokeessa saatua arvoa puristuskimmokertoimeksi. Kimmokerroin suurenee jäykkyyden lisääntyessä. PCL:n Youngin moduuli vaihtelee 200-400 MPa välillä. Tämä johtuu materiaalin alhaisesta lasisiirtymälämpötilasta yhdistettynä kiteiseen rakenteeseen. (Gough & Christian 2008) Kirjallisuudesta löytyvien vetokokeiden tuloksia on kootusti esitelty alla olevassa taulukossa (taulukko 1).

**Taulukko 1.** PCL:n vetolujuudet, vedon kimmokertoimet ja venymät eri kirjallisuuslähteistä.

M <sub>n</sub> (g/mol)	M <sub>w</sub> (g/mol)	Vetolujuus (MPa)	Vedon kimmo- kerroin (MPa)	Venymä (%)	Valmistus- menetelmä	Lähde
60 000	100 000	15±2,6	250±10	>100		Hiljanen- Vainio et al.
37 000		15,7		660	Ruiskuvalu	Perstorp
42 500	72 500	16	400		Ahtopuristus	Eshraghi & Das
50 000	80 000	13	300	500	Ahtopuristus, levy	Rosa et al., Eshraghi & Das mukaan
		19,3	340			Wehrenberg et al., Eshraghi & Das mukaan

Mekaaninen rasitus edesauttaa luun uudelleen muodostumista. Suunniteltaessa kudosteknologisia kasvatusalustoja on hyvä ottaa huomioon materiaalien puristuslujuus,

sillä useasti *in vivo* -olosuhteissa luu joutuu alttiiksi puristukselle. (An & Draughn 2000, s. 25) Kiinteän PCL:n mekaanisia ominaisuuksia on enemmän tutkittu puristuskokeilla kuin vetokokeilla. Huokoisista rakenteista on helpompi valmistaa puristuskoenappeja kuin vetokoesauvoja. Huokoisuutta halutaan säätää parantamaan solujen kiinnittymistä kudosteknologiassa (Hutmacher 2001; Shor et al. 2009). Kiinteään PCL:n puristuslujuus on välillä 12,5-21,5 MPa (Ang et al. 2007; Eshraghi & Das 2010) ja puristuskimmokerroin välillä 109-407 MPa (Oläh et al. 2006; Ang et al. 2007; Shor et al. 2009; Eshraghi & Das 2010). Puristuskokeissa käytettyjen kappaleiden mitat vaikuttavat suuresti saatuihin tuloksiin. Puristuslujuus on useasti laskettu käyrän kohdasta jossa alun lineaarinen nousu poikkeaa 0,2% - 2%:ia. Kuten alla olevan kuvan (kuva 12) puristuskoeikäyrässä voidaan huomata, käyrällä ei nähdä selkeää myötymäkohtaa. Kuvaajan x-akselilla on esitetty jännityksen aiheuttama muodonmuutosprosentti.



**Kuva 12.** Säteilysteriloinnin vaikutus PCL:n puristuslujuuteen. (Muokattu Oläh et al. 2006)

PCL:n ja biokeraamien kompandointi lisää komposiitin lujuusominaisuuksia verrattuna puhtaaseen PCL:ään. Ang et al.:in (2007) kokeessa HA partikkeleiden lisääminen PCL:ään lisäsi puristuslujuutta 30% ja kimmokerrointa 138%. Tosin tällainen seos hajoaa puhdasta PCL:ia nopeammin menettäen mekaaniset ominaisuutensa lyhyemmässä ajassa. (Ang et al. 2007)

### 3.2. Termiset ominaisuudet

PCL sulaa alhaisessa 59-61°C asteen lämpötilassa. Sulamislämpötila on riippuvainen rakenteen kiteisyyden määrästä (Sinha et al. 2004). PCL:llä on alhainen lasisiirtymälämpötila -60°C. Tämä johtuu polymeerin lineaarisesta rakenteesta, joka ei sisällä suuria poolisia sivuryhmiä. Rakenteen ristosilloittuminen nostaa  $T_g$ :tä (Fried 2003, s. 153).  $T_g$ :n alapuolella materiaali on haurasta. Molekyylipainon kasvu voi nostaa lasisiirtymälämpötilaa. PCL monomeerit hajoavat 350°C asteessa (Lam et al. 2008).

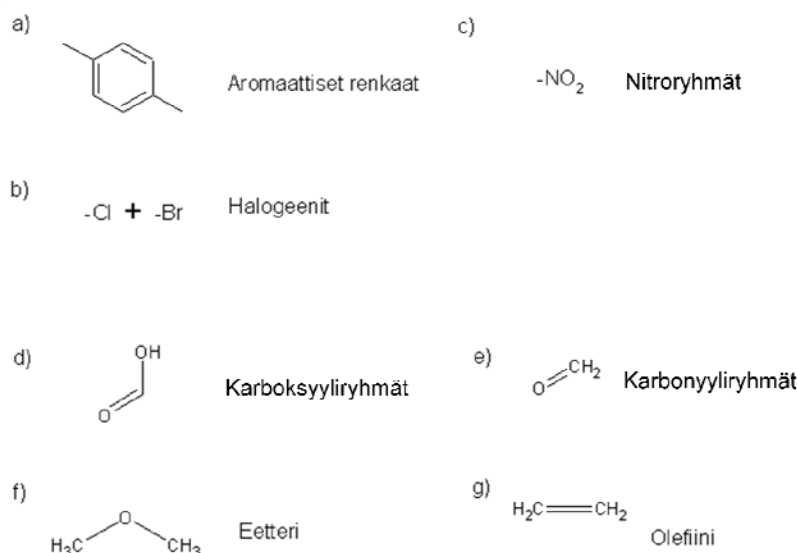
### 3.3. Kemiallinen kesto

PCL:n puolikiteinen rakenne estää joidenkin liuottimien vaikutuksen, jotka liuottaisivat vastaavia amorfisia polyestereitä. PCL liukenee yleisimpiin kloorattuihin liuottimiin, kuten kloroformiin. Se ei liukene huoneenlämmössä useimpiin alkoholeihin. Korkeimmissa lämpötiloissa PCL voi liueta joihinkin alkoholeihin, kuten n-butanoliin ja sykloheksanoliin. (Perstorp) Alla olevassa taulukossa (taulukko 2) on esitetty PCL:n liukenevuus joihinkin kemiallisiin liuottimiin.

**Taulukko 2.** PCL:n kemiallinen stabiilisuus (Muokattu Sinha 2004 ja Perstorp)

Liutotin	Liottimen kemiallinen kaava	PCL:n liukenevuus
<i>Kloroformi</i>	$\text{CHCl}_3$	Liukenee hyvin
<i>Diklorometaani</i>	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	Liukenee hyvin
<i>Hiilitetrakloridi</i>	$\text{CCl}_4$	Liukenee hyvin
<i>Bentseeni</i>	$\text{C}_6\text{H}_6$	Liukenee hyvin
<i>Tolueeni</i>	$\text{C}_7\text{H}_8$	Liukenee hyvin
<i>Sykloheksanoni</i>	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$	Liukenee hyvin
<i>2-nitropropani</i>	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$	Liukenee hyvin
<i>Etikkahappo</i>	$\text{CH}_3\text{COOH}$	Liukenee hyvin
<i>Asetoni</i>	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	Liukenee huonosti
<i>2-butanoni</i>	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$	Liukenee huonosti
<i>Etyyliasetatti</i>	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	Liukenee huonosti
<i>Dimetyyliformamidi</i>	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$	Liukenee huonosti
<i>Asetonitrili</i>	$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	Liukenee huonosti
<i>Alkoholi</i>	$\text{RCH}_2\text{OH}$	Ei liukene
<i>2-propanoli</i>	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Ei liukene
<i>Glyseroli</i>	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	Ei liukene
<i>Dietyylieetteri</i>	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	Ei liukene

Liuottimet joissa on aromaattinen-, halogeeni- tai nitroryhmä liuottaa PCL:a. Näiden kemialliset kaavat on esitelty alla olevan kuvan (kuva 13) kohdissa a, b ja c. Karboksyyli-, karbonyyli-, eetteri- ja olefiiniryhmä (kuva 13 d, e ja f) lisäävät liukoisuutta, mutta eivät yksinään liuota PCL:ia. Alkyyli- ja hydroksyyli-ryhmät liuottimessa alentavat sen tehoa. (Perstorp)



**Kuva 13.** Liuottimien funktionaalisia ryhmiä, jotka vaikuttavat PCL:n liukenemiseen. (Muokattu Perstorp)

### 3.4. Biokompatibiliteetti

Kehossa biomateriaali kohtaa useita kudostavasteita, joista osa on toivottuja ja toiset epäsuotuisia. Epäsuotuisat reaktiot ovat pitkäaikainen tulehdus, verenmyrkytys ja veritulpan, sekä implantin hylkimiseen liittyvät vierasesireaktiot. (Nikkola 2009) Ensimmäisenä biomateriaalin pinnalle vaeltavat plasman proteiinit. Proteiinien koostumukseen ja absorboitumiseen vaikuttavat biomateriaalin fysikaalis-kemialliset ominaisuudet, kuten hydrofobisuus, hydrofiilisyyys, polaarisuus, varaus sekä pinnan karkeus ja heterogeenisyys. Verihiutaleet kiinnittyvät proteiinkerrokseen ja veren hyytyminen alkaa. (Stavridi et al. 2003). PCL ja monet sen kopolymeerit sekä blendit katsotaan olevan biokompatibiliteetteja pehmyt- ja kovakudosten kanssa (Pitt 1990, s. 71; Serrano et al. 2004). Biokompatibiliteetilla tarkoitetaan materiaalin ominaisuutta saada aikaan sopiva kudoksen vaste. Määritelmä ei ole yksiselitteinen, sillä sama materiaali voi aiheuttaa eri reaktioita eri kudoksissa tai tilanteissa. Toivottujen vasteiden tulee olla lääketieteelliselle sovellutukselle ja sen materiaalille sopivia lopullisessa kudossympäristössään. (Williams 1999, s. 40)

PCL:n pinta on hydrofobinen, joka parantaa plasman proteiinien kiinnittymistä ja näin ollen hemokompatibiliteettia (Stavridi et al. 2003). Hemokompatibiliteetilla tarkoitetaan materiaalin yhteensopivuutta veren kanssa. Biomateriaali ei saa aiheuttaa runsasta veren hyytymistä tai huomattavaa verihiutaleiden tarttumista toisiinsa. Yleisesti PCL:lla on hyvä yhteensopivuus veren kanssa, jota voidaan vahvistaa pinnan kuvioinnilla. Pinnan muodot vaikuttavat solujen kiinnittymiseen. PCL:n pinnalla olevat kourut ja reiät saivat solut kiinnittymään näiden ympärille tai samaan linjaan muodostuman mukaan. (Corden et al. 2000). Stavridi et al. (2003) mukaan verihiutaleet eivät pysyneet säteilytetyn PCL:n pinnalla yhtä helposti kuin sterilioimattomalla pinnalla. Alle 5 Mrad säteilyannoksilla ei huomaitu olevan suuria haitallisia

vaikutuksia PCL-pinnoille. (Stavridi et al. 2003) Gammasteriloinnilla ei huomattu olevan vaikutusta solujen aktiivisuuteen (Corden et al. 2000).

Solut kiinnittyvät ja leviävät implantin pinnalle kiinnittymisproteiinien välityksellä. Hyvä kiinnittyminen auttaa myöhemmin solujen lisääntymistä ja erillaistumista. Tutkimuksissa on tutkittu PCL-levyjen pinnalle viljeltyjen hiiren ja ihmisen fibroblastien elinvoimaisuutta. Tuloksista voidaan todeta solujen onnistunut kiinnittyminen, kasvu ja morfologia. (Hutmacher 2001, s. 2540; Serrano et al. 2004) Tosin PCL:in pinnassa ei ole fysiologisia kohtia, joihin esimerkiksi epiteelisolut voisivat suoraan kiinnittyä. Kudosteknologisissa kasvatusalustoissa on solujen kiinnittymistä parannettu lisäämällä PCL:n pinnalle muumuassa kollageenia. Epiteelisolut pääsevät kiinnittymään kollageenin välityksellä PCL:in ja uuden epiteelikudoksen muodostuminen voi alkaa. (Zhu & Ong 2009)

PCL:lla ei ole huomioitu olevan myrkyllisiä vaikutuksia hajoamiskokeiden aikana. Hajoamistuotteiden paikallisvaikutus kudoksessa on riippuvainen polymeerin hajoamisnopeudesta ja kudoksen kyvystä puhdistautua. Implantin ympärille on huomioitu muodostuvan sidekudosekapseli. (Oh et al. 2008; Pulkkinen et al. 2008) Sidekudosekapselin paksuudeksi on mitattu 40 µm ensimmäisen viikon aikana implantoinnista. Paksuus lisääntyi seuraavien 12 viikon aikana 250 µm:iin. (Pulkkinen et al. 2008)

### 3.5. Steriloitavuus

Sairaalan leikkaussalissa aseptinen työskentely on erityisen tärkeää. Ihon läpäisevien toimenpiteissä steriloinnin ja desinfiointiaineiden avulla pyritään estämään kehoon menevät elinvoimaiset bakteerit, virukset, mikrobit ja niiden itiöt. (Lääkelaitos 2010) Kehon sisään asetettavat implantit toimitetaan usein valmiiksi steriloituna. Heti pakkauksen avaamisen jälkeen tuote altistuu ympäristön mikrobeille ja muille aineille. Steriloinnin avulla tuhotaan mikro-organismit ja niiden itiöt, jotka voivat aiheuttaa kehossa pitkäaikaisia infektiota tai muita epätoivottuja kehon vasteita. Standardi SFS-EN 556 mukaan steriilissä tuotteessa saa esiintyä elinkykyisiä mikrobeja alle yhden suhde miljoonan todennäköisyydellä. (Hirvonen 2008, s. 207)

Sterilointimenetelmiä on useita, ja oikean menetelmän valintaan vaikuttavat tuotteen materiaali ja ominaisuudet sekä tuotteen muoto. Sterilointimenetelmistä laajimmin käytettyjä ovat kuivaan ja kosteaan lämpöön sekä kemikaaleihin perustuvat menetelmät. Matalalämpösterilointimenetelmiä ovat kemialliset etyleenioksidi- ja formaldehydisterilointi, säteilysteriloinnista gamma- ja beetasterilointi sekä matalalämpöplasmasterilointi (Hirvonen 2008, s. 209).

Suoraketjuisista polyestereistä valmistettuja implantteja on steriloitu kuumailmalla, höyryllä, etyleenioksidilla ja säteilytyksellä. PCL:n alhainen sulamislämpötila estää lämpöön perustuvien menetelmien käytön. 70-prosenttista etanolia on käytetty desinfioimaan PCL-pohjaisia scaffoldveja ja nanokuituja (Wiria et al. 2006, Mavis et al. 2009). Etanolipesu ei tuhoa kaikkia mikrobeja ja jatkokäsittelyksi on käytetty muun



muassa UV-säteilytystä. Nanokuiduille tehdyssä sytotoksisuuskokeissa UV:lla ei havaittu olevan soluja tuhoavia vaikutuksia. Mavis et al (2009) toteutetti kokeen hiirien L929 fibroblasteilla. (Mavis et al. 2009)

### 3.5.1. Etyleenioksidi

Etyleenioksidia ( $C_2H_4O$ ) (EtO) käytetään kaasusterilointiaineena. Sterilointi tapahtuu alhaisissa 40-50°C:n lämpötiloissa. Muodostunut etyleenioksidikaasu tunkeutuu huokoistenkin rakenteiden sisään tappaen itiöt ja bakteerit tehokkaasti. EtO on myrkyllistä ja ainejäämät implanteissa voivat aiheuttaa vakaviakin seurauksia. (Hirvonen 2008, s. 232)

Etyleenioksidia käytetään harvoin PCL:n sterilointiin. Tillman et al. (2009) käytti PCL-kollageenikasvualustaan EtO-kaasusterilointia. Steriloinnin haitoista ei artikkelissa ole mainintaa ja *in vivo* -kokeissa ei havaittu implantin aiheuttavan epänormaalia inflammatorista vastetta viiden viikon kokeen aikana. (Tillman et al. 2009)

### 3.5.2. Säteilysterilointi

Ionisoivan säteilyn vaikutuksesta mikrobeissa tapahtuu kemiallisia muutoksia ja riittävän annoksen seurauksena ne kuolevat. Koska mikrobilajit kestävät säteilyn vaikutuksia eri tavoilla, on alhaisimmaksi säteilysteriloinnin annokseksi asetettu 25 kGy:n annos varmistamaan mikrobien inaktivoitumisen. Kerta-annoksen suureeksi SI-järjestelmässä merkitään Gray (Gy), missä yksi joule energiaa kohdistuu yhteen kilogrammaan massaa. Säteilysteriloinnissa hyödynnetään helposti läpitunkeutuvaa gammasäteilyä ( $\gamma$ -säteily) ja korkeaenergisiksi kiihdytettyjä elektroneja (electron beam, EB). (Kivijärvi 1983)

Säteilysteriloinnin etuina ovat sen erinomainen läpitunkeuvuus huokosiin sekä kiinteisiin materiaaleihin, helppo ja lyhyt prosessointi, sekä mahdollisuus steriloida tuotteet loppupakkauksissaan. (Kivijärvi 1983; Pliikk et al. 2006) Sterilointi voi aiheuttaa muutoksia PCL:n polymeerirakenteissa muodostamalla vapaita radikaaleja, jotka aiheuttavat kemiallisia muutoksia (Pliikk et al. 2006). Säteilytyksen vaikutuksesta polymeeriketjussa tapahtuu alifaattisten ketjujen silloittumista ja esterisidosten katkeamista rinnakkaisina tapahtumina (Södergård & Stolt 2002; Oläh et al. 2006). PCL:n keskimääräinen molekyylipaino ja mekaaniset ominaisuudet muuttuvat (Pliikk et al. 2006). Alle 260 kGy annoksilla PCL:n keskimääräinen molekyylipaino laskee ja moolimassajakauma oli laajempi kuin sterilioimattomalla polymeerillä. Suurienerginen säteily lisää silloittumista sitä enemmän mitä suurempi säteilyannos on. Käyttökohteesta riippuen PCL:n mekaanisia ominaisuuksia voidaan haluta muuttaa sterilioimalla ne suuremmilla annoksilla kuin olisi tarpeen. Vetolujuus laskee 100 kGy annoksen jälkeen 19 MPa:ista 15,8 MPa:iin. (Södergård & Stolt 2002) Muita havaittuja säteilytyksestä johtuvia muutoksia PCL:lla ovat hydrofiilisyyden kasvu sekä vähentynyt verihiutaleiden adheesio polymeerin pinnalle. Hydrofiilisyyden kasvu johtui pinnan hiilen hapettumisesta polaariseksi karboksyyli- tai ketoniryhmäksi. Verihiutaleiden

vähentyneellä adheesiolla ei ollut vaikutusta kokonaiskoaguloitumisaikaan. (Stavridi et al. 2003)

EB ja gammasteriloinnin vaikutuksista puhtaaseen PCL:iin, sekä PCL:n kopolymeereihin on olemassa joitakin tutkimuksia. Plikk et al. (2006) vertaili EB:n ja  $\gamma$ -säteilyn eroja huokoisilla scaffoldeilla, jotka valmistettiin eri pitoisuuksilla L,L-laktidi- (LLA), 1,5-dioksepaani-2-1- (DXO) ja kaprolaktonimonomeereja (CL). LLA:an lisätty CL lisäsi polymeerin stabiilisuutta säteilytyksessä. Kaprolaktonia sisältävissä kopolymeereissä CL-lohko oli yleisimmin ketjun stabiilimpi osa. Taulukossa 3 kopolymeerin osan suhteellisen osuuden kasvu viittaa monomeerin stabiilisuuteen ja vastaavasti lasku epästabiilisuuteen. Tästä voidaan päätellä, että säteilytys vaikuttaa polymeerin sidoksiin ja molekyyliyrhmiin, ei niinkään tiettyyn ketjuun tai osaan polymeeristä. (Plikk et al. 2006) Ainoa poikkeus oli eroavuus 17L84C-kopolymeerissä, jossa osuus laski 83%:sta 81,5%:iin. LLA oli stabiilimpi monomeeri.

**Taulukko 3.** Säteilysteriloinnin vaikutus kopolymeerien monomeerien stabiilisuuteen. Osuuden lasku kertoo epästabiilisuudesta. (Muokattu Plikk et al. 2006)

Polymeeri	Kopolymeerin suhteet (mol%) EB 2,5MRad		Kopolymeerin suhteet (mol%) EB 7,5MRad		Kopolymeerin suhteet (mol%) $\gamma$ 2,5MRad		Kopolymeerin suhteet (mol%) $\gamma$ 7,5MRad	
	DXO	CL	DXO	CL	DXO	CL	DXO	CL
25D75C	24	76	24	76	24,5	75,5	23,9	76,1
17L83C	LLA	CL	LLA	CL	LLA	CL	LLA	CL
	18,5	81,5	18	82	18,3	81,7	18,1	81,9
67L33C	66,8	33,2	65,3	34,7	66,1	33,9	65,4	34,6
93L7C	92,9	7,1	92,7	7,3	92,8	7,2	92,6	7,4

Taulukossa 4 on esitetty erisuuruisten EB- ja  $\gamma$ -säteilytysannosten vaikutus polymeerien lukukeskimääräiseen moolipainoon. PCL homopolymeerin moolimassa muutos EB:llä oli suurimmillaan 21 400 (g/mol) kun PLA homopolymeerin vähenemä oli jopa 212 200 (g/mol). Kopolymeereillä sterilointi voi vaikuttaa ketjun mikrorakenteeseen. (Plikk et al. 2006)

**Taulukko 4.** Molekyylipainojen muutos ionisoivassa steriloinnissa. (muokattu Plikk et al. 2006)

Polymeeri	$M_{n,0}$ (g/mol)	$M_{n,EB}$ (g/mol)			$M_{n,\gamma}$ (g/mol)		
		2,5 (MRad)	5,0 (MRad)	7,5 (MRad)	2,5 (MRad)	5,0 (MRad)	7,5 (MRad)
100C	83 100	69 200	61 700	62 300	80 700	74 400	65 800
17L83C	85 700	67 000	65 600	57 900	77 600	60 500	68 900

Kaprolaktonikopolymeerien kiteisyysasteeseen EB lisäsi kiteisyyttä, kun vuorostaan  $\gamma$ -säteilyn huomattiin vähentävän sitä. Amorfisilla alueilla tapahtui pieniä muutoksia

molekyyliketjujen pituuksissa. Tämä voitiin todeta vähäisinä muutoksina lasisiirtymälämpötiloissa. Erojen suuruuksista Odelius et al. (2008) ei raportoinut. Polymeeriketjujen lyhentyessä kietoutuneet polymeeriketjut avautuvat, mikä lisää polymeeriketjujen päiden määrää.  $T_g$  alenee ketjujen liikkuaessa vapaammin polymeerin sisällä (Odelius et al. 2008)

Sterilointiin käytetyllä EB-säteilyllä on vain vähäistä vaikutusta PCL:n puristuslujuuteen. Polymeerissä tapahtuu jonkin verran ristisilloittumista, joka parantaa PCL:n puristuslujuutta. Olah et al. (2006) mukaan steriloimattomalla  $M_w$  80 000 PCL:llä puristuskimmokerroin oli 156 MPa, joka lisääntyi 10%:lla EB-säteilytyksen jälkeen. Tuloksista ja kuvaajan muodosta (kuva 12) voidaan todeta ettei EB-steriloinnilla ole suurta merkitystä PCL:n puristuslujuuteen. Kuva 12 esiteltiin alaluvussa 3.1 (Olah et al. 2006)

EB-steriloinnin vaikutus PCL:n biokompatibiliteettiin verrattiin antibiootilla pintasteriloituun PCL:n, joka muistutti steriloimatonta pintaa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää steriloinnin pitkäaikaisvaikutuksia osteoblastien elinvoimaisuuteen implantin pinnalla. Osteoblastien prosentuaalinen elinvoimaisuus näytteen pinnalla alentui säilytyksen aikana. 54 päivän jälkeen säteilytyksestä elinvoimaisia osteoblasteja oli enää vajaat puolet alkuperäisestä määrästä. Solut olivat elinvoimaisempia vertailumateriaalin pinnalla kuin EB-steriloidulla pinnalla kokeen ajan. (Olah et al. 2006) Tosin pitkän koeajan puitteissa, solukuolemat saattoivat johtua myös muista tekijöistä kuin steriloinnista.

## 4. LUUSEMENTIT

Lääketieteessä sementti tarkoittaa liimamaista ainetta, joka kovettuu tietyssä olosuhteessa edistään kudoksen ja implantin kiinnittymistä. Hammaslääketieteessä sementtejä käytetään täyttämään koloja tai kiinnittämään siltoja ja muita proteeseja paikoilleen. Ortopediassa luusementtiä käytetään tekonivelleikkauksissa parantamaan proteesin paikalleenkiinnittymistä, vahvistamaan murtumakohtia sekä lääketta paikallisesti luovuttavana aineena. (Larsson 2006; Hasenwinkel 2008, s. 52-59) Nivelrikkoja ja traumoja korjattaessa nivelen tietyt osat poistetaan kirurgisessa toimenpiteessä ja tilalle asennetaan metallinen tai muovinen proteesi. Vuonna 2008 arviolta 50 prosentissa tekonivelleikkauksia käytettiin luusementtiä stabiloimaan proteesin liikkumista ja siitä seuraavaa irtoamista paikoiltaan. Luusementin toisena tehtävänä on siirtää metallisesta proteesista aiheutuvia kuormituksia luulle suotuisammaksi. (Hasenwinkel 2008, s. 52-59)

Luusementtiä on tutkittu käytettäväksi myös vertebroplastiassa (PVP) ja kyphoplastiassa (PVK), joissa selkänikaman nikamasolmun hohkaluun murtumaan injektoidaan luusementtiä. Nikamamurtumat johtuvat yleisimmin ikääntymisestä johtuvasta osteoporoosista. Myös trauma, verisuonikasvaimet (hemangioomat), imukudoskasvaimet (lymfooma), luukasvaimet tai näiden etäpesäkkeet voivat aiheuttaa nikamamurtumia. (Puumala 2002) Hoitomuodoissa käytetään yleisesti polymetyylimetakrylaatti sementtejä (PMMA) (Hu & Hart 2007).

### 4.1. Luusementtien tuomat edut ja haitat

Sementin hyödyllisyydestä ortopediassa löytyy ristiriitaisia mielipiteitä. Lonkkaproteesin varren kiinnittymistä ympäröivään luuhun voidaan todistetusti parantaa sementin avulla. Luusementteinä käytettyjen materiaalien mekaaniset ominaisuudet ovat proteesin stabiloinnin kannalta hyödyllisiä. Sementtiin voidaan lisätä antibiootteja edistämään kudoksen paranemista ja estämään infektioiden syntymistä. (Hasenwinkel 2008, s. 60-68)

Akryylipohjaisten sementtien haittapuolina ovat polymeroinnin aikana tapahtuva eksoterminen reaktio, jäännösmonomeerit sekä postoperatiivisesti vaikea korjausleikkaus, mikäli proteesi irtoaa paikoiltaan tai aiheuttaa vakavan jatkuvan infektion (Hasenwinkel 2008, s. 60-68). Leikkauksen aikana ja sen jälkeen havaittuja muita ongelmia voivat olla rasvan, vierasaineen tai ilman kulkeutuminen verisuoniverkostoon, missä ne aiheuttavat niin kutsuttu embolian ja estävät verenkierron suonien ruokkimalla alueella. Antibiootit voivat aiheuttaa allergiareaktion tai infektion (McCaskie et al. 1997; Puumala 2002; Sukeik & Haddad 2009).

Ennen sementin ja proteesin paikalleenasennusta tulee leikkaushaava puhdistaa huolellisesti. Sementin injektointi sementtipyssyllä ja tämän jälkeen varren asettaminen paikoilleen aiheuttaa painetta luumontelossa. (McCaskie et al. 1997) Verenpainetta, toisin sanoen laskimopainetta, suurempi toimenpiteen aikana aiheutuva paine voi työntää avoimista verisuonen päistä vierasesineitä, kuten rasvaa, luuydintä tai sementin osia verenkiertoon tai imusuoniin (Jacobsson & Bengtsson 2004). Jäännösmonomeereja todennäköisemmin luuydin ja rasva aiheuttavat emboliaa (Kuehn 2005, s. 29).

PMMA:n monomeerit ovat myrkyllisiä ja voivat aiheuttaa matalan verenpaineen, paikallista kudosaärsytystä, keuhkorakkuloiden tukkeutumista ja sydämen tiheälyöntisyyden eli takykardian (Hu & Hart 2007). Luusementin käyttö lisää embolian riskiä. Tosin myös sementittömien proteesileikkauksien yhteydessä on potilailla diagnosoitu emboliaa. (Jacobsson & Bengtsson 2004) Laskimoverenkierrosta ylimääräinen aine voi kiertää keuhkoihin ja aiheuttaa matalan verenpaineen ja happivajauksen. Varren paikoilleenlaittamisessa tulee odottaa sementin jähmettymistä. Liian aikaisin paikoilleen asennettu varsi voi poistaa sementin ydinkanavasta. Liian myöhään applikoitu sementti, jonka viskositeetti on liian suuri, voi heikentää sementin kiinnittymiskykyä proteesiin. (McCaskie et al. 1997; Kuehn 2005, s. 30)

Luusementin käytössä PVP:ssä löytyy ongelmia. Sementin leviäminen väärään paikkaan kuten epiduraalitilaan voi tukkia hermojuurikanavat vakavin seurauksin. Sementin aiheuttamat keuhkokomplikaatiot ovat PVP:ssä harvinaisempia kuin rasvan tai luuytimen aiheuttamat. Suurin osa sementtivuodoista on oireettomia. Sementin väärä käsittely tai leikkauksen aikana tehdyt virhelaskelmat ovat aiheuttaneet myös kylkiluiden, rintalastan ja selkänikamankaaren murtumia. (Hu & Hart 2007)

PMMA:n korvaavia sementtimateriaaleja on tutkittu ahkerasti. Kalsiumfosfaatit (CaP), kalsiumsulfaatit (CaSO<sub>4</sub>), hydroksiapatiitit (HA) ja korallijyvät ovat biohajoavia, osteokonduktiivisia ja niiden polymerisoinnissa ei vapaudu lämpöä. Mineraalisementteillä on suuri viskositeetti, mikä hankaloittaa sementtien asentamista nikaman sisään. Biohajoavat vaihtoehdot PVP:en vaativat vielä tutkimusta. (Hu & Haddad 2007) Viime aikoina suureksi ongelmaksi PVP-hoidoissa on osoittautunut niiden kyseenalainen toimivuus. Buchbinder et al. (2009) teki kaksoissokkokekeen tutkimalla vertebroplastian tehokkuutta selkänikamamurtumista johtuvaan kipuun. Kokeella osoitettiin, ettei PVP:llä voitu merkittävästi lieventää potilaan kipua. (Buchbinder et al. 2009)

## **4.2. Luusementteinä käytettyjä materiaaleja**

### **4.2.1. Akryylipohjaiset sementit**

PMMA:ia on käytetty luusementtimateriaalina hammaslääketieteessä ja ortopediassa jo yli 40 vuoden ajan. PMMA ei sitoudu kemiallisesti proteesin varteen eikä kudokseen. Ortopediassa sementti täyttää varren ja luun väliin jäävän ontelon ja parantaa näin proteesin kiinnittymistä. (Hasenwinkel 2008, s. 60-68)

Kaupalliset tuotteet polymerisoidaan ennen asennusta kahdesta eri komponentista: pulverista ja nesteestä. Pulverissa sekoittuvat esipolymeritoitu PMMA:ia ja initiaattori-

aineet. Neste koostuu kolmesta osasta, metakrylaattimonomeerista, N,N-dimetyyli-*p*-toluidiini (DMPT):sta ja hydrokinonista (HQ). DMPT toimii polymerisoinnin aktivaattorina ja HQ ehkäisee spontaania polymerisoitumista säilytyksen aikana. Myös lisäaineita ja kopolymerointia on käytetty kaupallisissa tuotteissa parantamaan sementin ominaisuuksia. (Hasenwinkel 2008, s. 60-68) Nesteen koostumus saattaa vaihdella tuotteittain.

Akryylipohjaisia sementtejä voidaan tehdä bioaktiiviseksi lisäämällä sementtiin bioaktiivisia komponentteja, kuten hydroksiapatiittia (HA) trikalsiumfosfaattia ( $\beta$ -TCP) tai bioaktiivista lasia (BAG). Keraamit käynnistävät tiettyjä biologisia toimintoja, jotka nopeuttavat kudoksen paranemista. (Swee 2004, s. 2-5, Williams 1999, s. 42)

PMMA:n polymeroitumisreaktiossa metyylimetakrylaatin (MMA) hiilen kaksoisidos katkeaa ja muodostuu yksinkertainen sidos. Reaktio on eksotermisen, jolloin polymeerin lämpötila kohoaa kovetuksen aikana. Lämpötilaan vaikuttavat polymeerikerroksen paksuus, massa ja koostumus. 3 mm paksun kerroksen lämpötila kohoaa 60°C:en. Luukudoksen kuolio tapahtuu jo 47°C:ssa. Kirjallisuudessa löytyy paljon tutkimuksia lämpötilan aiheuttamista komplikaatioista, kuten nekroosista ja implantin irtoamisesta (Dunne & Orr 2001, Stanzyk & Van Rietbergen 2004). Tuloksista voidaan todeta, että ohuen sementtikerroksen, lyhyen altistusajan ja märän ympäristön vuoksi PMMA:n eksotermisen reaktio ei ole suurimpia ongelmia akryylipohjaisten sementtien kanssa. Toinen polymerisoinnin yhteydessä havaittu ongelma on jäännösmonomeerien aiheuttama kemiallinen luun kuolio tai sementin mekaanisten ominaisuuksien heikkeneminen. Monomeerit voivat aiheuttaa matalaa verenpainetta, paikallista kudoksen ärsytystä ja keuhkorakkuloiden tukkeutumista. PMMA sementin sisään jääneet ilmakuplat heikentävät enemmän mekaanisia ominaisuuksia kuin jäännösmonomeerit. Tämän vuoksi luusementti sekoitetaan nykyisin vakuumin sisällä. (Hasenwinkel 2008, s. 98-117)

Akryylipohjaisten luusementtien mekaanisten ominaisuuksien tutkimiseen käytetään ISO 5833-standardia. Standardi sisältää tutkimusmentelmien lisäksi akryylipohjaisille sementteille vähimmäisvaatimukset, jotka markkinoilla olevien tuotteiden tulee täyttää. Standardi ei sisällä ohjeistuksia kaikkiin mekaanisiin kokeisiin ja jotkin minimirajat ovat hyvin alhaiset, joten luusementeille tulee tehdä laajempia tutkimuksia kuin tämä standardi velvoittaa. ISO 5833 mukaan sementin puristuslujuus tulee olla vähintään 70 MPa:ia. Akryylipohjaisten sementtien mekaanisiin ominaisuuksiin vaikuttavat käytetty monomeeri, koostumus, käsittely ja testausmenetelmät. PMMA-sementtien vetolujuudet ovat heikkoja verrattuna polymeerin puristuslujuuksiin. Sementti käyttäytyy hauraasti vedossa. (Hasenwinkel 2008, s. 60-68) Seuraavan sivun taulukossa (taulukko 5) on esitetty kirjallisuudesta löytyviä mekaanisten lujuuksien arvoja PMMA-sementille verrattuna luun vastaaviin ominaisuuksiin.

**Taulukko 5.** Akryylipohjaisten sementtien ja ihmisen luun mekaaniset ominaisuudet

Materiaali	Vetolujuus (MPa)	Puristus- lujuus (MPa)	Vedon kimmo- kerroin (GPa)	Puristuksen kimmo- kerroin (GPa)	Taivutuslujuus (MPa)	Lähde
Ihmisen kl.* (Reisiluu)	120-140	179-209	14-20	15-19	103-238	Reilly et al. 1974
Ihmisen kl. (Sääriluu)	45-170	183-213	19-29	25-34	-	Burstein et al. 1976
Ihmisen hl.*	5-10	5-10				Temenof et al. 2000
PMMA yleisesti	24-49	73-117	2-3	2-3	50-85	Hasengawa 2008
Palacos™	53	86	3	2	71 (Kuehn 2005)	Spierings 2005
OsteopalG™	55	89	-	-	74	Kuehn 2005

\*kl. Lyhenne kortikaaliluu, \*hl. Lyhenne hohkaluu

Ihmisen luiden mekaaniset ominaisuudet ovat yksilökohtaisia, sillä ominaisuuksiin vaikuttaa ihmisen ikä, luuntiheys, luun koostumus ja mineralisaatio, sekä näytteenotto-kohta ja testausmenetelmät. (Davison et al. 2006)

Luuntiheys on myös yksilöllinen suure, joka muuttuu iän mukana. Nuorilla lapsilla luut ovat huomattavasti pehmeämpiä kuin keski-ikäisillä. Vanhetessa luiden rakenne muuttuu hauraammaksi. Etenkin vaihdevuosien alkamisen jälkeen naiset kärsivät osteoporoosista. Vaihdevuosien alkaessa estrogeenihormoonin tuotanto vähenee ja aiheuttaa osteoklastien ja osteoblastien toiminnan häiriintymisen. Osteoklastit ovat monitumaisia soluja, jotka huolehtivat luun hajottamisesta. Yksitumaiset osteoblastit tuottavat hajotetun luun tilalle soluväliainetta ja huolehtivat mineralisaatiosta. Estrogeenien vähentyessä osteoklastien toiminta lisääntyy. Luu hajoaa nopeammin kuin osteoblastit voivat sitä uudistaa. Tällöin luun tiheys ja näin ollen myös lujuus vähenevät huomattavasti. (Solunetti 2009)

#### 4.2.2. Kalsiumpohjaiset sementit

Uudempiä luusementtituotteita ovat kalsiumpohjaiset (CPC) injektoitavat luusementit. Biohajoavia tuotteita on käytetty murtumien hoitoon, ruuvien ankkurointiin ja lääkettäluovuttaviksi laitteiksi (Ginebra et al. 2005; Larsson 2006; Hashemi et al. 2008). CaP ja CaSO<sub>4</sub> tuotteet sekoitetaan jauhomaisesta kalsiumfosfaattisuolasta ja nestemäisestä osasta, joka voi olla vettä, suolaliuosta tai natriumfosfaattia. Murtumien hoitoon tarkoitettuja CPC tuotteita on tutkittu jo monen vuoden ajan. Ongelmia ovat olleet sementtien vaikea käsiteltävyys, kallis hinta ja huono injektoitavuus. (Bohner et al. 2005) Mekaanisten ominaisuuksien puolesta CPC-sementit eivät vastaa akryylipohjaisia sementtejä (Clarkin et al. 2009). CaP sementeillä on havaittu komplikaatioita luun murtumien hoidon yhteydessä; paikalliset soluvauriot ja verisuonitukoksien muodostuminen (Nystrom et al. 2008).

CPC-sementtien koostumus määrää pitkälle materiaalin ominaisuudet. Yleisesti mineraalisementtien puristuslujuudet ovat suurempi kuin niiden vetolujuudet. Seuraavassa taulukossa (taulukko 6) on esitelty eri CaP-sementtien mekaanisia ominaisuuksia. Jähmettymisen jälkeen puristuslujuus on suurempi kuin ihmisen hohkaluun, mutta jää kuitenkin kortikaaliluun arvoja pienemmäksi. Esimerkiksi FDA:n hyväksymä fosfaattimonohydraatin ((Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O), kalsiumkarbonaatin (CC) ja β-TCP:n sekoituksen vetolujuus on 2,1 MPa. Sementtiä voidaan käyttää luun murtumien korjaamiseen tai parantamaan lonkkamurtumien hoitoon käytettyjen ruuvien kiinnittymistä. (Temenoff & Mikos 2000)

**Taulukko 6.** Kaupallisten luusementtien mekaaniset ominaisuudet. (Clarkin et al. 2009)

<i>Materiaali</i>	<i>Kauppanimi ja lyhenne</i>	<i>Puristuslujuus (MPa)</i>	<i>Taivutuslujuus (MPa)</i>	<i>Lähde</i>
Kalsiumfosfaatti	Hydroset <sup>TM</sup> , CaP	24	9	Clarkin et al. 2009
Lasialkanoaatti	Zn-GPC	27	6	Clarkin et al. 2009
Kalsiumsulfaatti	MIIG 115 <sup>R</sup> , CaSO <sub>4</sub>	18		Wmt
Kalsiumsulfaatti	MIIG X3 <sup>R</sup>	42		Wmt

CaP on osteokonduktiivinen, biohajoava ioniyhdiste. Osteokonduktiivisen materiaalin pinta mahdollistaa luun kasvun. Osteoinduktiivinen pinta stimuloi osteogeneesiä. (Williams 1999, s. 234) Hydroset<sup>TM</sup> on markkinoilla oleva luun uudelleenmuodostumista tukeva injektoitava täyteaine Strykerilta. Hydroset<sup>TM</sup> materiaalia voidaan käyttää myös tukemaan osteoporoottiseen luuhun kiinnitettynä metallisia ruuveja. Sementti voidaan injektoida paikoilleen ja sen polymeroituminen ei vapauta lämpöä. Kehossa CaP muuntuu HA:ksi, jota löytyy luun mineraalirakenteesta. CaP-sementti on FDA:n hyväksymä materiaali kalloon ja kasvoon liittyvien sairauksien hoitoon. (Xu et al. 2007)

CaSO<sub>4</sub>:sta on myös tehty niin kutsuttuja luusementtejä. MIIG 115<sup>R</sup> ja MIIG X3<sup>R</sup> ovat Wright Medical:in injektoitavia luumurtumien hoitoon suunniteltuja sementtejä. (WMT) CaSO<sub>4</sub>-tuotteiden ongelmana ovat niiden heikot mekaaniset ominaisuudet; hauraus ja heikkous (Larsson et al. 2006).

### 4.3. Luusementtien tutkimus

#### 4.3.1. Luuta mallintavat testialustat

Käytettäessä synteettisiä materiaaleja testausalustoina saadaan testausolosuhteet mahdollisimman samankaltaisiksi (ASTM F 1839-01). Keinotekoisia aineita on helpompi käsitellä ja niiden säilytys ei vaadi erityisiä toimenpiteitä. Komposiitti- tai polyuretaanialustan (PUR) tiheyttä voidaan säädellä muistuttamaan haluttua luun tiheyttä. Sawbone-komposiittimateriaali jäljittelee reisiluun ja sääriluun rakennetta. Neljännen sukupolven materiaalissa käytetään kortikaaliluun vastineena lasikuitukankaalla lujitettua epoksia. Seuraavan sivun taulukossa (taulukko 7) esitellään



tervettä luuta mallentavan sawbone-materiaalin vetokimmokerroin, vetolujuus, puristuslujuus ja puristuskimmokerroin. (Heiner 2008)

**Taulukko 7.** Sawbone-materiaalin mekaaniset ominaisuudet. (Heiner 2008)

<i>Materiaali</i>	<i>Vetolujuus (MPa)</i>	<i>Puristuslujuus (MPa)</i>	<i>Vedon kimmokerroin (GPa)</i>	<i>Puristuksen kimmokerroin (GPa)</i>
Sawbone (3s sukupolvi)	90	120	12	8
Sawbone (4s sukupolvi)	107	154	16	17

Ihmisen hohkaluun tiheys vaihtelee välillä 0,09–1,25 g/cm<sup>3</sup>. Osteoporootista luuta voidaan mallentaa käyttämällä tiheydeltään 0,09 g/cm<sup>3</sup> olevaa Sawbone-alustaa. (Chen et al. 2009)

#### 4.3.2. Ruuvien ulosveto

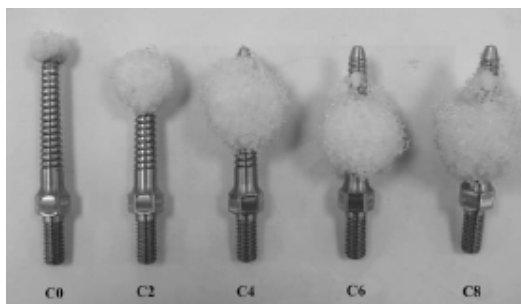
Ruuvien ulosvetotesti eli ns. pullout-koe mittaa voimaa, joka tarvitaan irrottamaan ruuvi alustastaan. Pitovoimaan vaikuttaa ruuvien rakenne ja materiaali, asennustekniikka, ruuvien reiän muoto, sekä alustan tiheys. Luuruuvien pitovoimaa voidaan mallintaa kiinnittämällä ruuvit luuhun tai luuta muistuttavaan aineeseen. (ASTM F 1839-01) Hohkaluun rakenne on vaihteleva ja anisotrooppinen. Tästä johtuen ruuvien kiinnittymisvoima hohkaluuhun vaihtelee. (Wang et al. 2009)

Luuruuviin kohdistuva voima siirtyy kärkeä runkoa pitkin ympäröivään luukudokseen. Ruuvien mekaaniset ominaisuudet, kuten jäykkyys määrittelevät sen, mitä voima aiheuttaa luulle. Ruuvien kierteitä on olemassa erilaisilla tiheyksillä ja profiileilla. Hohkaluuruuvissa kiertet ovat syvemmällä kuin kortikaaliruuvissa. Lukkoruuvi on tarkoitettu kiinnittämään metallisia levyjä. Lukkoruuvissa kiertet ovat matalammat, mutta kiertetien harjantvälit sijaitsevat tiuemmin. (Valuatlas)

Osteoporoosissa luun mineraalitiheys vähentyy ja rakenne muuttuu hauraaksi. Ruuvia ympäröivä kudos muuttuu sienimäiseksi ja ruuvien kiertetien ja luun kosketuspinta vähenee. Ihmisen reisiluun kaulalla tehdyssä kokeessa todettiin, että mineraalitiheyden laskiessa murtumiseen tarvittava voima laskee lineaarisesti. Jos tiheys on suurempi kuin 0,79 g/cm<sup>2</sup>, taipuu metallinen lantioruuvi dynaamisen voiman alla. Alhaisemmilla mineraalitiheyksillä antaa ruuvia ympäröivä luu periksi ja ruuvi leikkautuu irti. (Goh et al. 1995)

Ruuvien kiinnitysmekanismilla ja asennuksen vääntövoimalla on merkitystä ulosvetolujuuteen. Asennuksen vääntömomentti tulisi ylittää ruuvien asennuksesta johtuvan kitkavoiman, puristus- ja vetolujuudet. Toinen ulosvetolujuuteen vaikuttava tekijä on ohjausreiän tekeminen. Ohjausreikä voidaan porata poranterällä ja kiertetistä jälkikäteen. Ruuvien asennusvirheet ja ylimääräisten reikien tekeminen vähentyy. (Siddiqui et al. 2004; Chen et al. 2009) Ruuvien ulosvetolujuutta on yritetty parantaa

monilla eri keinoilla. Ruuvien sekä kierteiden muotoa voidaan varioida ja kiinnitystä parantaa käyttämällä eri biohajoavia tai biohajoamattomia sementtejä, kuten PMMA:a, HA:a, CP:a ja  $\text{CaSO}_4$ :a. Sementtejä käytetään osteoporoosista kärsivillä potilailla. Sementit voidaan lisätä suoraan murtumakohtaan tai valmiiksi porattuun ohjausreikään tällä alueella. Murtumakohtaan injektoidun sementin ongelmana on huono tunkeutuvuus luun sisään. Yksi vaihtoehto on lisätä ruuvin sisälle kanava, josta luusementti pääsee ympäröivään kudokseen asennuksen yhteydessä. Tällä tekniikalla leikkaus nopeutuu. Chen et al.(2009) tutki kanavoitujen ruuvien ulosvetolujuutta.  $0,09 \text{ g/cm}^3$  Sawbone<sup>TM</sup> testialustasta. Tarkastelun kohteena oli ohjausreiän kierteytyksen merkitys, sekä ruuviin tehtyjen reikien vaikutus ulosvetolujuuteen. Testi suoritettiin ASTM F 543-02 standardin mukaisesti. (Chen et al. 2009)



**Kuva 14.** Kanavoidut ruuvit. C- merkinnällä viitataan varressa olevien reikien lukumääriin. (Chen et al. 2009)

Kanavoitujen ruuvien varteen lisättiin sementille ulostuloreikiä siten että C0 merkityssä ruuvissa oli ulostuloreikä ainoastaan kärjessä. Kuvassa 14 nähdään ruuvien ulostuloreijistä valuneen sementin määrä. Ruuvien nimien numerot viittaavat varressa olevien reikien määrään. Ruuvien ulosvetotesteissä huomattiin sementin ja luun välisen liitoksen pettäneen. Tuloksissa nähdään reikien määrän lisäyksen ulosvetolujuutta. Reiät mahdollistivat sementin kulkeutumisen laajemmalle alueelle ennen jähmettymistä. Ulosvetolujuus kasvoi lähes lineaarisesti ruuvissa olevien reikien määrän lisääntyessä. Ohjausreikien kierteistäminen alensi ruuvien ulosvetolujuutta kaikissa muissa paitsi C2:en tapauksessa. (Chen et al. 2009) Huomio on mielenkiintoinen, sillä itse murtumakohtaan ei kierteistäminen vaikuttanut. Sawbone<sup>TM</sup> testausalustan materiaali on saattanut kärsiä ohjausreiän kierteistämisen aikana, joka on vaikuttanut ulosvetolujuuksien arvoihin. Paras ulosvetolujuus 340 N saatiin C8 ruuvilla ilman ohjausreiän kierteistystä. Verrattuna sementittömään ruuvin pitovoimiin, kasvu oli 300-kertainen. (Chen et al. 2009)

Rohmiller et al. (2002) injektoidi ohjausreikään  $\text{CaSO}_4$ -tahnaa ja verrokiksi PMMA-luusementtiä. Nikamankaareen tarkoitettu 6,5 mm ruuvi asetettiin paikoilleen käsin ruuvaamalla. Testausalustana käytettiin ihmisen lannenikamaa, johon porattiin 4,5 mm halkaisijaltaan oleva ohjausreikä. Tuloksissa huomataan sementtien parantaneen huomattavasti ruuvien kiinnittymistä alustaansa. Ilman sementtiä voima jäi 600 N tasolle

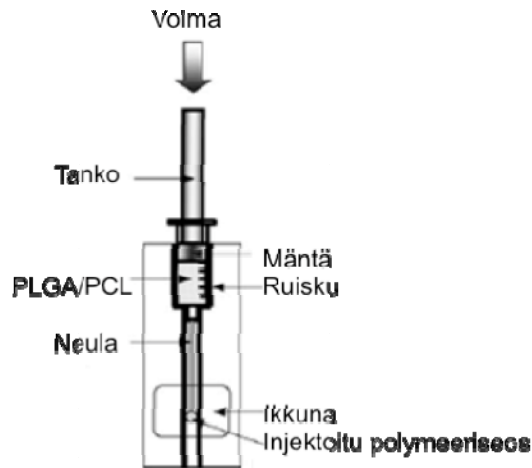
kun vuorostaan PMMA-sementoitu ruuvi tarvitsi 1300 N irrotakseen.  $\text{CaSO}_4$ -tahnalla sementoitu ruuvi irtosi 1100 N voimalla. (Rohmiller et al. 2002)

#### 4.3.3. Injektoitavuus

Injektiolla tarkoitetaan materiaalin tai lääkkeen saattamista haluttuun paikkaan ruiskuttamalla. Injektoitavuus on materiaalin ominaisuus, joka riippuu materiaalin viskositeetistä. Oletuksena on että materiaalin virtauksen, joka on käänteinen suure materiaalin viskositeetille, lisääntyessä myös injektoitavuus paranee. Injektoitavuusprosentti voidaan määrittää injektioruiskusta poistuneen materiaalin suhteena koko materiaalin massaan ennen injektiota. (Qi et al. 2008) Leikkaussaleissa materiaalien, kuten luusementtien, injektointi tapahtuu usein injektiopistoolin ja korkean paineen avulla. Tämän vuoksi injektoitavuutta tulisi selittää enemmän materiaalin ominaisuutena säilyttää homogeenisuutensa ruiskutuksen aikana, kuin tarvittavan voiman kautta. (Bohner & Baroud 2005)

Luusementtimateriaaleille on tehty useita injektoitavuutta mittaavia kokeita.  $\text{CaSO}_4$ - ja PMMA-luusementtimateriaaleja käytettäessä injektoitavuuteen vaikuttavat veden sekoittuminen, partikkelien muoto ja jähmettymisaika (Bohner & Baroud 2005, Qi et al. 2008). Clarkin et al. (2009) vertaili markkinoilla olevan CPC sementtin, Hydroset<sup>TM</sup>:n ja uuden lasi-polyalkanoaattisementin (Zn-GPC) eroavuuksia. Zn-GPC sementtejä on käytetty hammaslääketieteessä. Bioaktiivisella ja antibakteerisella sementti materiaalilla on sopivat mekaaniset ominaisuudet murtumien hoitoon. Zn-GPC-sementin käytössä ongelmana on sen lyhyt työstämisaika. Sementtien työstämisaika ( $t_w$ ) määritettiin ISO 9917 standardin mukaan ajaksi, jona sementin sekoittamisesta lähtien materiaali voidaan työstää ilman haitallisia vaikutuksia rakenteeseen. Kovettumisaika ( $t_s$ ) lasketaan ISO 9917 alkavaksi sementin sekoittamisesta lähtien kunnes neula ei kykene enää tekemään ympyränmallista lovea sementtiin (ISO 9917). Injektoitavien luusementtien työstämisaika on sanottu olevan 6–10 minuuttia ja kovettumisaika 15 minuuttia. Liian lyhyt käsittelyaika hankaloittaa sementtien käyttöä leikkauksissa. Injektoitavuuskokeissa testattiin materiaalin injektoitavuuteen tarvittavaa voimaa 250 N asti. Injektoitaessa käsin 250 N voimaa pidetään suurimpana mahdollisena voimana. Zn-GPC sementti injektoitui 10G kanulasta 5 mm, kun toisaalta 250 N kohdalla kaikki Hydroset<sup>TM</sup> oli tullut ulos. (Clarkin et al. 2009)

Poly (DL-laktidi-glykolidi) (PLGA) matriisissa olevien PCL-partikkelien käyttöä on tutkittu biohajoavana täyteaineen virtsaputkessa. Virtsanpidätyskyvyn hoitoon tarkoitettu injektoitava PLGA-PCL-blendi olisi halpa, vähän invasiivinen vaihtoehto verrattuna muihin olemmassa oleviin hoitoihin. (Oh et al. 2006)



**Kuva 15.** *Injektoitavuuden testiasetus (Muokattu Oh et al. 2006)*

Blendin todettiin olevan biokompatibileetti. PCL-partikkelit hidastivat täyteaineen hajoamista. PLGA-PCL komposiitin injektointavuutta tutkittiin käyttämällä eri kokoisia neuloja. Neulojen päiden halkaisijat olivat: 18G (0,8 mm), 20G (0,6 mm) ja 22G (0,4 mm). Ainoastaan 18G neulalla oli mahdollista injektoida blendi käsin. 20G:n ja 22G:n neulankärjillä PCL-partikkeleita tukkivat ruiskua ja injektointiin tarvittava voima kasvoi yli 200 N:in. Injektointiin käytetyn testauslaitteiston osat näkyvät yllä olevassa kuvassa (kuva 15). (Oh et al. 2005)

## **5. KOKEELLISEN OSUUDEN TEHTÄVÄN MÄÄRITTELY**

Työn kokeellisen osuuden tavoitteiksi asetettiin seuraavat kohdat

- 1) tutkia eri valmistajien PCL-vaihtoehtoja ja valita sopivin polymeeri mahdollisen luusementin kaltaisen sovellutuksen näkökulmasta
- 2) toisiko kyseinen materiaali etua mahdollisessa käyttökohteessa
- 3) löytää sellaiset tutkittavalle materiaalille sopivat tutkimusmenetelmät, joiden tulokset olisivat vertailukelpoisia kirjallisuuden arvojen kanssa
- 4) määritellä PCL:in käyttäytymistä mahdollisen sovelluskohteen paikalleen asennuksessa

Yritys valitsi ja toimitti tutkittavat materiaalit.

## 6. MATERIAALIT JA MENETELMÄT

### 6.1. Materiaalit

Kokeellisessa osuudessa käytettiin eri molekyylipainon polykaprolaktoneja (PCL), jotka valittiin ja toimitettiin työn toimeksiantajan puolesta. Lääketieteellinen PCL laatu on erittäin puhdasta ja se toimitettiin valkoisina hiutaleina. Materiaalien nimeämisessä käytettiin alla olevan taulukon (taulukko 8) mukaisia nimiä. Lyhenteissä lääketieteelliseen laatuun viitataan L-merkinnällä nimen alussa. Tekninen laatu on epäpuhtaampaa ja se toimitettiin valkoisina pelletteinä. T-merkintä tarkoittaa teknisen laadun PCL:a. Osa materiaaleista gammasteriloitiin 25 kGy:n kerta-annoksella kerran tai kaksi kertaa. Lyhenteen lopussa oleva G tai 2G kertovat sterilointiannosten määrät.

**Taulukko 8.** Kokeissa käytetyt materiaalit, näiden keskimääräisen IV tulokset ja käytetyt lyhenteet.

IV(dl/g) keskiarvo	Lyhenne	Sterilointi
1,37	L902-1.37	-
0,85	L921-0.85G	1xG
0,84	L921-0.84-2G	2xG
0,93	L921-0.93	-
0,49	L962-0.49	-
0,59	L963-0.59	-
0,72	L964-0.72	-
0,79	L965-0.79	-
0,92	L966-0.92	-
0,47	L962-0.47G	1xG
0,57	L963-0.57G	1xG
0,69	L964-0.69G	1xG
0,75	L965-0.75G	1xG
0,85	L966-0.85G	1xG
1,01	LRC-1.0	-
0,65	LRC-0.65-2G	2xG
0,93	LRC-0.93G	1xG
1,90	T6800-1.90	-
0,84	T6250-0.84	-
0,83	T6250-0.83G	1xG
0,82	T6250-0.82-2G	2xG
0,89	T6400-0.89	-
0,86	T6400-0.86G	1xG
0,86	T6400-0.86-2G	2xG

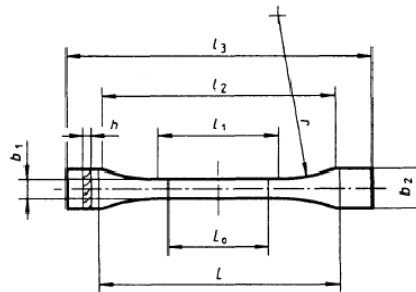
Edellisen sivun taulukossa 8 esitellään eri kokeissa käytetyt materiaalit ja näiden sisäisten viskositeettimittausten (IV) keskiarvot. Polymeerin toimittajan mukaan teknisen PCL-laadun sulamislämpötila ( $T_m$ ) oli 58-60°C ja lasisiirtymälämpötila -60°C.

## 6.2. Testikappaleiden valmistus

Vetokokeen standardin SFS-EN ISO 527 mukaisesti. Koiranluunmuotoisen koekappaleiden mitoiksi valittiin 1BB:n mitat, jotka näkyvät alla (taulukko 9 ja kuva 16). Kapean tasalevyisen osan pinta-alaksi laskettiin 4 mm<sup>2</sup>. Polytetrafluoroeteenistä (PTFE) valmistettu valumuotti näkyy kuvassa 17.

**Taulukko 9.** Standardin EN-ISO 527-2 mukaisen vetokappaleen mitoitus. (Standardi EN-ISO 527-2)

	<i>Merkintä</i>	<i>Pituus (mm)</i>
Kokonaispituus	$l_3$	$\geq 30$
Kapean tasalevyosan pituus	$l_1$	$12 \pm 0,5$
Leveiden tasalevyisten osien etäisyys toisistaan	$l_2$	$23 \pm 2$
Päiden leveys	$b_2$	$4 \pm 0,2$
Kapean osan leveys	$b_1$	$2 \pm 0,2$
Suosittelava paksuus	N	$\geq 2$
Pidikkeiden alkuperäinen etäisyys	L	$l_2^{+1}$



**Kuva 16.** Standardin mukainen koiranluukappale (Standardi SFS-EN ISO 527)

Kappaleiden valmistus toteutettiin ruiskuvalamalla käsin muottiin. Muotti lämmitettiin 76-90°C asteiseksi ennen valua. PCL-granulat tai -hiutaleet sulatettiin lämpökaapissa (Termaks TS8136, Bergen, Norja) 90°C:ssa.



*Kuva 17. Vetokoe-kappaleiden valumuotti ja ruisku*

Puristuskokeessa standardin mukainen testikappale on joko prisman tai sylinterin muotoinen, joista sylinterimuoto on useammin käytetty. Materiaalin niukkuuden vuoksi koekappaleiden halkaisijaksi valittiin 20 mm ja syvyydeksi 10 mm. PTFE-muottiin polymeeri injektoidiin 90°C asteisena. Wang et al. (2004) käytti samoja mittoja puristuskokeissa testatessaan PCL:stä valmistettuja kudosteknologisia alustoja (Wang & Dong 2004).

### **6.3. Mekaaniset koestukset**

PCL materiaali näytteiden mekaanisia ominaisuuksia testattiin vetokokeilla ja puristuskokeilla. Koelaitteistona käytettiin TTY:n biolääketieteen tekniikan laitoksen Instron 4411-aineenkoestuslaitteistoa (InstronLtd., High Wycombe, Iso-Britania). Kokeiden tulokset kerättiin talteen Instron IX<sup>TM</sup>-ohjelmistolla (Instron Series IX Automated Materials tester, Version 8,31, High Wycombe, Iso-Britania). Ruuvien ulosvetokoe suoritettiin samalla koelaitteistolla. Osa kokeista suoritettiin korotetuissa lämpötiloissa; 37°C, 40°C, 42°C ja 45°C:ssa. Instroniin lisättävän temperointiyksikkön (JJ. Lloyd Instruments, Southhampton, Iso-Britania) avulla saatiin lämpötila pidettyä vakiona koestuksen ajan.

#### **6.3.1. Vetokoe**

Vetokoejärjestelyt noudattivat EN ISO 527-1:1993 ja EN ISO 527-2:1996 standardeja. Vetokokeissa käytettävät paineilmaleuat näkyvät kuvassa 18. Kappaleen liukumista ulos leukojen välistä parannettiin liimaamalla hiekkapaperipalat leukojen pinnoille ja lisäämällä näin kitkaa materiaalin ja leuan väliin. Leukojen alkuetäisyys oli 24 mm, joka määräytyi standardin mukaan. 500 N voimaselli oli käytössä kaikissa vetokokeissa.





**Kuva 18.** Instron 4411 laitteisto, vetokokeen paineilmaleuat ja temperointiyksikkö.

Veto tapahtui standardin mukaisilla vakionopeuksilla 1 mm/min tai 5 mm/min. Nopeammalla vetonopeudella laitteiston muistikapasiteetin loppuminen ei keskeyttänyt koetta elastisempien näytteiden kohdalla. Kappaleiden mitat tarkistettiin ennen kokeen aloittamista. Laitteisto mittasi venytystä vastustavaa voimaa koekappaleen murtumiseen asti. Korotetuissa lämpötiloissa ilmankosteus pysyi vakiona 30%:ssa. Vetokokeiden jälkeen vetokoesauvojen murtopinnat kuvattiin stereomikroskoopilla (*Zeiss SV 8, Saksa*).

Vetokokeista kerätystä datasta laskettiin materiaalin venymä, jännitys ja kimmokerroin. Materiaalin elastisuutta voidaan kuvata murtovenymäprosentilla. Jännitys saadaan laskettua suurimman mitatun voiman suhteena koekappaleen alkuperäiseen poikkipinta-alaan kaavalla:

$$\sigma = \frac{F_{max}}{A} \quad (1)$$

Kaavassa  $\sigma$  on vetojännitys eli polymeerin vetolujuus,  $A$  on kappaleen alkuperäinen poikkipinta-ala ja  $F_{max}$  vedon suurin voima. Vetojännitys ilmoitetaan megapascaleina [MPa], voima Newtonina [N] ja kappaleen alkuperäinen poikkipinta-ala neliömillimetreinä [mm<sup>2</sup>].

Koekappaleiden nimellinen venymä lasketaan leukojen välimatkan lisäyksen [mm] suhteena leukojen alkuperäiseen välimatkaan [mm] kaavalla:

$$\varepsilon_t = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (2)$$

Vetokimmokerroin eli Youngin moduuli lasketaan jännitysvenymäkäyrän lineaariselle alkuosalle piirretyn tangentin kulmakertoimesta. Vetokimmokerroin ilmoitetaan megapascleina [MPa] kaavan kolme mukaisesti.  $\sigma_1$  on lineaarisen alueen vetojännitys venymän  $\varepsilon_1$  kohdassa ja  $\sigma_2$  on lineaarisen alueen vetojännitys venymän  $\varepsilon_2$  kohdassa. Youngin moduulin kaava on:

$$E_t = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\varepsilon_2 - \varepsilon_1} \quad (3)$$

### 6.3.2. Puristuskoe

Puristuslujuus ja puristuskimmokerroin voidaan laskea puristuskokeen voima-siirtymä -käyrästä. Puristuskokeessa käytettiin Instron 4411:een (Instron Ltd., High Wycombe, Iso-Britania) asennettavaan erikoisvalmistettua osaa, joka näkyy seuraavan sivun kuvassa (kuva 19). Koekappale asetetaan kahden tason väliin. Tasojen laakerointi mahdollistaa kitkattomasti liikkuvan tasaisen puristusjännityksen koekappaleen pinnoille.

Puristuskokeessa sovellettiin ASTM standardia 695 (ASTM 695). Puristusnopeudeksi valittiin 1 mm/min vakionopeus ja voimaselliksi 5 kN. Testikappaleiden halkaisijat ja korkeudet mitattiin ennen ja jälkeen testin suorittamisen. Puristuskokeen voima-siirtymäkäyristä laskettiin myötöraja.



**Kuva 19.** Puristuskoeleuat temperointiyksikön sisällä.

Tulosten vertailupohjaksi valittiin sellainen materiaali, jonka mekaanisten ominaisuuksien arvot löytyvät kirjallisuudesta. Palacos<sup>R</sup> R on Heraeus-yrityksen toimittama antibioottia sisältämä PMMA-luusementti. Tästä materiaalista valmistettiin aikaisemmin kuvatuilla PTFE-muoteilla kaksi vetokoekappaletta ja viisi puristuskoenappia. Luusementin käsittelyssä noudatettiin seuraavia sementin käyttöohjeita. Sementin nestemäinen monomeerikomponentti toimitettiin ruskeassa lasiampulissa. Ennen käyttöä ampulli ravistettiin huolellisesti, avatiin ja kaadetiin sekoitusastiaan, joka toimii myöhemmin ruiskun säiliönä. Alla olevassa kuvassa (kuva 20) on esitelty sementin sekoitusvaihe.



**Kuva 20.** Heraeus<sup>TM</sup> sekoitusjärjestelmän säiliö, sekoitussupilo ja nesteampulli.

Polymeerijauhekomponentti kaadetiin nesteen päälle. Säiliöön imettiin 200 mbar paine vakuumpumpulla ja sekoitettiin Palacos<sup>R</sup>:n sekoitusjärjestelmällä. Sekoitusta

jatketaan 30 sekunnin ajan. Odotusvaiheen aika määräytyi huonelämpötilan mukaan kahdeksi minuutiksi. Tämän jälkeen sementti oli valmis amplikoitavaksi siihen tarkoitetun sementtipyssyn avulla. Sementtipyssy näkyy kuvassa 21.

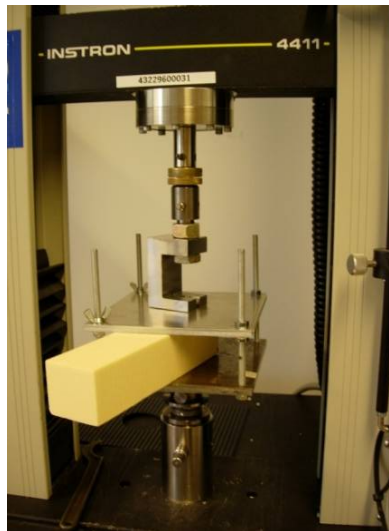


**Kuva 21.** Heraeus<sup>TM</sup> luusementtipyssy ja säiliöstä poistettu sekoitussauva.

PMMA on tunnetusti kovempaa materiaalia kuin PCL, joten koejärjestelyt siirrettiin Loyd-aineenkoestuslaitteistolle (JJ. Lloyd Instruments, Southampton, Iso-Britania). Data kerättiin talteen Nexygen<sup>TM</sup>-ohjelmistolla (JJ. Lloyd Instruments, Southampton, Iso-Britania). 10 kN voimaselli oli käytössä puristus- ja vetokokeissa. Puristuskokeeseen valittiin 50 N:n aloitusvoima, jotta puristusnappi sai tasaisen puristuksen koko pinta-alalle.

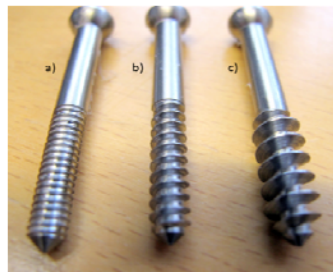
### 6.3.3. Ruuvien ulosveto

Ulosvetotestissä tutkittiin lisättävän PCL-materiaalin mahdollisesti tuomaa etua ruuvien kiinnittymiseen testialustaan. Testissä sovellettiin ASTM standardia F543- 07e1 (ASTM F543). Instron 4411 – aineenkoestuslaitteistoon (Instron Ltd., High Wycombe, UK) lisättiin erikoisvalmistettu osat, jotka näkyvät alla olevassa kuvassa (kuva 22).



**Kuva 22.** Instron laitteestoon kiinnitetyt osat sekä pienihuokoinen Sawbone<sup>TM</sup>-testausalusta ruuvien ulosvetokeissa.

Luumurtumien hoitoon käytetyistä ruuveista valittiin osittaiskierteistetyt lukko-, kortikaali- ja hohkaluuruuvit. Ruuvien materiaali oli ruostumatonta terästä L361. Lukkoruuveja käytetään kiinnittämään murtumafiksaatioon tarkoitettuja levyjä. Näiden ruuvien sisähalkaisijan ja ulkohalkaisijan mitat olivat 4,20 mm ja 4,55 mm (kuva 23, kohta a). Kortikaaliruuveissa oli matalammat kierreteet kuin hohkaluuruuvissa, kuten kuvassa 23 voidaan havaita. Sisähalkaisijaltaan 3,15 mm ja ulkohalkaisijaltaan 4,55 mm olevassa kortikaaliruuvissa oli nousuja enemmän kuin hohkaluuruuvissa. Kortikaaliruuvit ja hohkaluuruuvit ovat nimensä mukaisesti tarkoitettu korjaamaan murtumia kovan kuoriluun ja pehmeän hohkaluun alueilla. Hohkaluuruuvien sisähalkaisija oli 3,30 mm ja ulkohalkaisija 6,50 mm.



**Kuva 23.** Ulosvetokokeessa käytettyjen ruuvien erot kierreprofiileissa, järjestyksessä tiheimmästä harvimpaan: lukkoruuvi (a), kortikaaliruuvi (b) ja hohkaluuruuvi (c).

Sawbone<sup>TM</sup>-testausalustoiksi valittiin kolme erilaista rakennetta, jotka mallensivat osteoporoottista hohkaluuta, tervettä hohkaluuta sekä tervettä kortikaaliluun ja hohkaluun muodostamaa komposiittirakennetta. Voimaselliksi valittiin 500 N ja vetonopeudeksi 1mm/min. Seuraavat vaiheet kuuluivat ruuvien ulosvetokokeiden testausjärjestelyihin:

- Sawbone testausalustaan porattiin 20 mm syvä ja halkaisijaltaan taulukon 10 mukainen reikä.
- PCL sulatettiin 10 ml lääkeruiskuissa (BD Discardit<sup>TM</sup>, Becton Dickinson, Espanja)
- PCL sulaa injektoidiin  $1,5 \pm 0,5$ g reikiin 63°C asteisena.
- Polymeerin annettiin kovettua, jonka jälkeen porattiin ohjurin avulla ohjausreikä samaan kohtaan kuin aikaisempi reikä.
- Kortikaaliruuvien reiät kierreistettiin
- Laminoidulla testialustalla reikiin porattiin saatoreiät taulukon 10 mukaisesti
- Ruuvit ruuvattiin paikoilleen kuusiojakoavaimella

**Taulukko 10.** Ulosvetokokeessa käytettyjen reikien halkaisijat eri ruuvityypeille.

<i>Ruuvityyppi</i>	<i>Aloituseriän halkaisija (mm)</i>	<i>Kierteistys</i>	<i>Saattoreiän halkaisija (mm)</i>
Kortikaaliruuvi	3.2	kyllä	ei
Hohkaluuruuvi	3.2	ei	4.5
Lukkoruuv	3.7	ei	4.2

## 6.4. Muut testit

### 6.4.1. Kemiallinen kestävyys

Kemiallisessa kestävyudessa tutkitaan materiaalin käyttäytymistä eri liuoksien kanssa. Tutkimuksella täydennetään kirjallisuudesta löytyvää tietoa, niiden liuosten osalta, joiden oletetaan mahdollisesti olevan kosketuksessa leikkaussalissa materiaalin kanssa. Kemiallisen kestävyuden liuoksiksi oli valittu leikkaussaleissa puhdistukseen käytettyjä desinfektioaineita: vetyperoksidiliuosta ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), natriumkloridia ( $\text{NaCl}$ ), sekä 99.5% etanolia ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ). Heikoista emäksistä 0.01 molaarisena (M) natriumhydroksidi ( $\text{NaOH}$ ) sekä heikoista hapoista maitohappo ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ).  $\text{NaOH}$  liuosta on käytetty stimuloimaan PCL:in nopeutettua hajoamista 0,01 M ja 5 M liuoksina (Lam et al. 2008). Maitohappo kuuluu luonnonperäisiin orgaanisiin happoihin, joita voidaan lisätä kotitalouden puhdistusaineisiin. Paremmiin maitohappo tunnetaan biohajoavan polymeerin lähtötuotteena, ruoka-aineiden säilyvyyttä lisäävänä kemikaalina tai kasvinkasvua säätelevänä aineena. (Datta et al. 1995)

Materiaalin kemiallisen kestävyuden tutkimisessa käytetään SFS-EN ISO 175-standardia ”Muovit: Nestemäisten kemikaalien vaikutukset” (SFS-EN ISO 175 1999). Standardia sovelletaan testausaikojen ja lämpötilojen osalta testaukselle sopivaksi. Ohjeistuksen mukaan kemiallisen aineen vaikutuksia voidaan havainnoida kolmella eri menetelmällä: massan ja mittasuhteiden muutoksen mittaus, mekaanisten ominaisuuksien muutoksen mittaus tai materiaaliin imeytyneen nestemäärän mittaus (SFS-EN ISO 175 1999).

PCL:lle tehtävässä testisarjassa seurattiin massan ja mittasuhteiden muutoksia eri liuosten vaikutuksesta, sekä ilmoitettiin mahdollisista värin muutoksista. Kappaleet upotetaan liuokseen 1 minuutiksi, 30 minuutiksi sekä kahdeksi tunniksi. Kahden tunnin kokeessa koeputket, jotka sisältävät kemiallisen liuoksen ja koekappaleen, asetettiin  $40^\circ\text{C}$  asteiseen vesihauteeseen.

Kokeen ensimmäisessä vaiheessa kappaleet mitattiin ja punnittiin 0,1 mg tarkkuudella Mettler AT261 DeltaRange-vaalla (Mettler Toledo AG, Greifensee, Sveitsi). Ennen koetta näytteet kuivattiin vakuumikaapissa (WTB Binder, Tuttlingen, Saksa) 24 tunnin ajan. Tämän jälkeen näytteet upotettiin liuokseen koejärjestelyjen mukaisiksi ajoiksi. Testausajan jälkeen kappaleet pestiin tislattulla vedellä ja kuivattiin nukkaamattomaan paperiin. Näytteet punnittiin ja kuivattiin kahden tunnin ajan vakuumikaapissa.

Tuloksista analysoitiin prosentuaalisia muutoksia seuraavien standardin ISO 175 kaavojen avulla:

$$\frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad (4)$$

$$\frac{m_3 - m_1}{m} \times 100 \quad (5)$$

Kaavassa  $m_1$  on kappaleen paino ennen testiä,  $m_2$  on kappaleen paino heti testin jälkeen, jolloin kappaleet oli pesty ja kuivattu liinalla.  $m_3$  on kappaleen paino kahden tunnin kuivatuksen jälkeen. Massan muutokset suhteutettuna alkuperäiseen alaan (A) laskettiin kaavoilla 6 ja 7 seuraavasti:

$$\frac{m_2 - m_1}{A} \times 100 \quad (6)$$

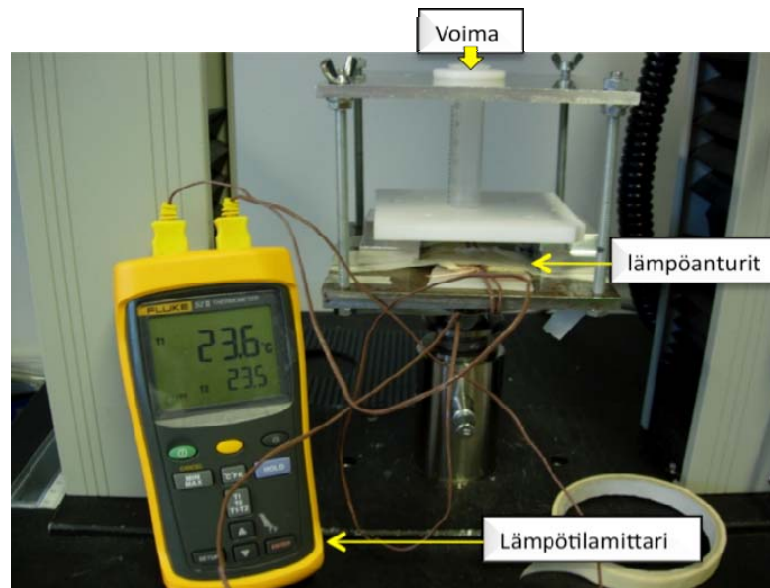
$$\frac{m_3 - m_1}{A} \times 100 \quad (7)$$

Koejärjestelyssä tutkittiin kolme rinnakkaista näytettä. Kappaleiden leveys, paksuus ja pituus mitattiin ennen koetta ja verrattiin tuloksia toisen kuivatuksen jälkeisiin tuloksiin.

#### 6.4.2. Injektoitavuus

PCL:n injektoitavuuskokeissa tutkittiin materiaalin käyttäytymistä injektion aikana. Kokeen aikana mitattiin injektoidun polymeerin lämpötilan laskua ja injektoimiseen tarvittavan voiman kasvua polymeerin jähmettyessä. Kokeissa noudatettiin läheisesti Clarkin et al. (2009) kuvailemaa koejärjestelyä. Tulokset ilmoitettiin voima-siirtymä funktioina sekä aika-lämpötila-funktioina (Clarkin et al. 2009).

Testausalustan (kuva 24) väliin asetettiin 10 ml kertakäyttöinen lääkeruisku (BD Discardit<sup>TM</sup>, Becton Dickinson, Espanja), siten että tasojen väli oli 89,9 mm. Ruiskun kärki asetettiin PTFE:stä valmistetussa levyssä halkaisijaltaan 4,30 mm olevan reiän läpi. Kärjen sisähalkaisija oli 1,90 mm.



**Kuva 24.** *Injektoimisessa käytetty koejärjestely. Ulostulevan sulan lämpötilaa mittaavat lämpöanturit on aseteltu ruiskunpään alle.*

PCL-granulat sulatettiin viidessä eri lämpötilassa; 58°C, 60°C, 63°C, 65°C ja 70°C. Lämpökaapista (Termaks TS8136, Bergen, Norja) ruisku asetettiin Instron-laitteistoon ja siirtoon kulunut aika merkittiin ylös. Lämpöanturit mittasivat polymeerin lämpötilaa ennen ja jälkeen injektion. Puristusnopeudella 1 mm/min materiaali alkoi valua lämpöantureiden päälle. Ulospuristuneen materiaalin lämpötilan muutoksia seurattiin testistä tallennetun videonauhan avulla.

#### 6.4.3. Sisäinen viskositeetti

Nesteen sisällä molekyylit liikkuvat eri nopeuksilla toisiinsa nähden ja aiheuttavat nesteen sisäistä kitkaa. Tätä tapahtumaa kutsutaan viskositeetiksi. Molekyylien välisten vuorovaikutusten lisääntyessä virtaa vastustava voima kasvaa, jolloin myös nesteen viskositeetti arvo kasvaa. (Siljander 2006)

Sisäinen viskositeetti (IV) määritettiin Biolääketieteen tekniikan laitokselta löytyvällä Lauda PVC -kapillaariviskosimetrlaitteistolla (Lauda Viscometer iVisc, Saksa). Laitteistoon kuuluvat vesihaude, jota lämmitetään Lauda -termostaatilla (Lauda ecoline stradition E 215 T, Saksa) sekä kaksi neljähäaraista Ubbelohde 0<sub>c</sub> kapillaariviskosimetriputkea (Schott-Geräte, Mainz, Saksa).

Sisäisen viskositeetin mittausrakenteisto ja mittaukset noudattavat ISO 1628-1:1998 (E) ja ISO 2105:1994 standardeja. Polymeeristä leikattiin  $20 \pm 0.5$ g näytteet, jotka liuotetaan kloroformissa yön yli. Hauteen lämpötila oli 25°C. Kloroformin ja kahden rinnakkaisen näytteen takaisinvirtausajoista laskettiin keskimääräinen sisäinen viskositeetti alla olevalla kaavalla:



$$\eta_{inh} = \frac{\ln \frac{t_1}{t_0}}{c} \quad (8)$$

Kaavassa  $t_1$  on näytteen takaisinvirtausaika,  $t_0$  on liuottimen takaisinvirtausaika ja  $c$  on näytteen konsentraatio.

## 6.5. Tilastollinen analyysi

Veto- ja puristuskokeiden tuloksia vertailtiin toisiinsa ja laskettiin oliko näiden tulosten välillä tilastollisesti merkitsevää eroa. Tieteellisten tutkimusten tulokset tulisi esittää tietyn luotettavuustason puitteissa. Merkinnällä  $p=0,05$  tarkoitetaan että tällä luotettavuustasolla olemme 95 %:en varmoja oikeasta ratkaisusta. (Nokelainen 2010)

Kokeissa käytetyt testisarjojen otoskoot olivat pieniä, joten päädyimme käyttämään merkitsevyystestauksessa Mann-Whitney U -testiä. Tällä testillä voidaan tarkastella kahden mediaanin eron tilastollista merkittävyyttä. Testi perustuu havaintoarvojen järjestyslukuihin. Näiden summan avulla saadaan verrattua keskimääräisen tason eroa. (Nokelainen) Nollahypoteesiksi ( $H_0$ ) valittiin väittämä, ettei kahden populaation välillä ole merkitsevää eroa. Alla olevan kaavan (kaava 9) mukaisesti lasketaan U:n arvo, jota verrataan liitteenä C oleviin taulukkoarvoihin, jotka määräytyvät otoskokojen mukaan.

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_2(n_2+1)}{2} - \sum_{i=n_1+1}^{n_2} R_i \quad (9)$$

Kaavassa  $n_1$  on ensimmäisen otoksen koko ja  $n_2$  on toisen otoksen otoskoko.  $R_i$  on yhteenlasketun otoskoon arvoaste.

## 7. TULOSTEN TARKASTELU

### 7.1. Sisäinen viskositeetti

Ennen kokeita ei tiedetty kaikkien laatujen massakeskimääräisiä molekyylipainoja ( $M_w$ ). T6250-0.84  $M_w$  on toimittajan mukaan on 25 000<sup>g</sup>/<sub>mol</sub> ja T6400-0.89 on 37 000<sup>g</sup>/<sub>mol</sub>. PCL:n IV -tuloksen kasvaessa massakeskimääräinen molekyylipaino lisääntyy. IV -tuloksia ei mitattu käytetyn prosessointimentelmän jälkeen. Yhden syklin gammasterilointi alensi PCL-näytteiden sisäisen viskositeetin arvoja keskimäärin 5%. Toisella sterilointi syklillä ei ollut näinkään suurta merkitystä, vaan IV tulos ei laskenut ollenkaan T6400-0.86-2G PCL:lla ja T6250-0.82-2G yhden prosentin verran verrattuna kertaalleen steriloituun.

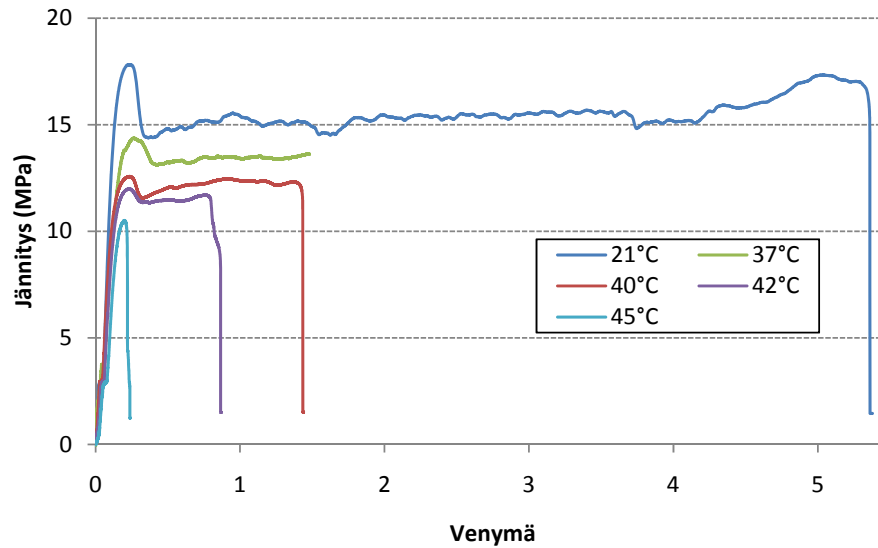
### 7.2. Mekaaniset ominaisuudet

#### 7.2.1. Vetolujuus

Vetokokeiden avulla tutkittiin lämpötilan, puhtausasteen, keskimääräisen molekyylipainon ja steriloinnin vaikutuksia PCL:n mekaanisiin ominaisuuksiin. Elimistön tulehduksellinen vaste infektoihin eli sepsis voi aiheuttaa pidempiaikaistakin lämpötilan nousua kehossa. Kudoksen lämpötilan nousu vaikuttaa näin myös injektointiin PCL:n. Ihmisen normaali kehon lämpötila on 36,4°C:n ja 37°C välillä. Kuumeessa lämpö nousee yli normaalin lämpötilan. Yleisesti kuumeen rajaksi määritellään 37,5°C. Sytokiinien aiheuttaman lämmön nousu ylittää harvoin 41,1°C. Joidenkin sairauksien kuten lämpöhalvauksen tai hyperpyreksian yhteydessä ruumiinlämpö voi nousta jopa 42-45°C:een. Näin suuri lämmön nousu voi aiheuttaa potilaalle aivovaurion tai kuoleman. (Tierney et al. 2005, s. 1243) Implantin materiaali altistuu kudoksen lämpötilan vaihteluille. Tästä johtuen veto- ja puristuskokeissa käytettiin huoneenlämpötilan lisäksi 37°, 40°C, 42°C ja 45°C. Tuloksista todettiin lämpötilan nousemisen alentavan materiaalin vetolujuuksia.

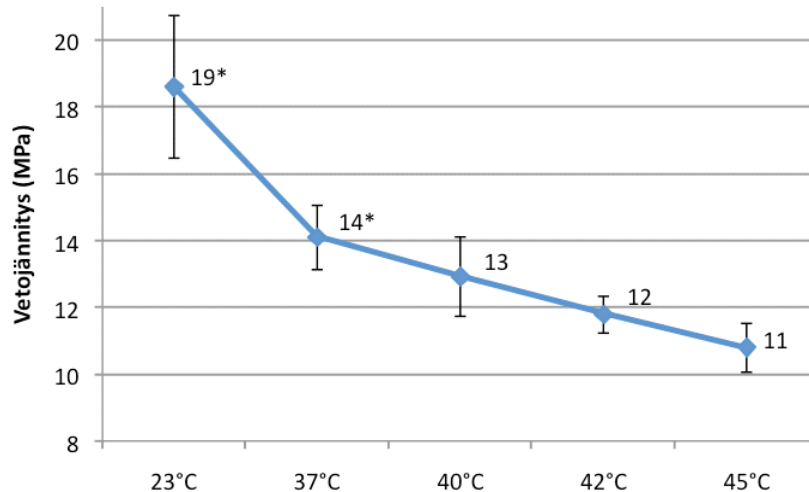
Vetokoekappaleet ruiskuvalettiin PTFE –muottiin, joka jäähdytettiin vesikierron sisältävien laippojen välissä. Sulassa polymeerissä ilmenneet ilmakuplat tuottivat suurimman ongelman valmiissa koekappaleissa. Ilmakuplia voitiin poistaa riittävän pitkän sulatusajan avulla, sekä asettamalla mäntä paikoilleen siten, että viimeiset kuplat poistuivat kärjestä ennen polymeerin injektointia. Vähintään 10 minuutin sulatusaika osoittautui sopivaksi. Kappaleiden jähmettyminen kesti tunnin, jonka aikana polymeerin kiteytyminen tapahtui. Kiteisyyden määrää ei tutkittu ruiskuvalun jälkeen. Vetokoekappaleet säilytettiin minigrip -pusseissa valolta suojattuna.

Vetokokeiden jännitys-venymäkäyristä voidaan nähdä myötymäkohta (kuva 25), jonka jälkeen vetokoesauvaan muodostui kurouma. Pitkään venyneillä näytteillä kurouman jälkeen voitiin havaita lopussa lähes lineaarinen voiman kasvu, joka tarkoittaa polymeeriketjujen orientoitumista vedon suuntaan. Hauraasti murtuneilla näytteillä kappaleet katkesivat myötymän jälkeen. Erikoisjärjestelyjen vuoksi leukojen kiinnitykseen jouduttiin käyttämään useita liitinosia. Tämä aiheutti pienen välyksellisyyden, joka näkyi vetokoekäyriissä tasanteena noin 0,013kN kohdalla.



**Kuva 25.** Jokaisesta lämpötilasta valittu jännitys-venymäkäyrä esimerkki kuvaamaan lämpötilan vaikutusta kuvaajan muotoon.

Huoneenlämpötilan ja 37°C välillä löytyy suurin alenema vetolujuuksien tuloksissa. Suhteutettuna lämpötilan alenemiseen 14°C:lla, huomataan lujuuden alenemisen olevan lineaarista. Kuvassa (kuva 26) on esitetty viiden koekappaleen keskimääräiset vetolujuudet ja niiden standardipoikkeamat. 22°C lämpötilan korottaminen alensi PCL:n vetolujuutta 42 %:ia. Korkein testattu lämpötila 45°C alkaa lähestymään PCL:n sulamislämpötilaa 60°C. Materiaali alkaa pehmetä, jolloin mekaaninen lujuus heikkenee huomattavasti.



**Kuva 26.** Vetolujuuden muutos koestuslämpötilan noustessa. Tähdellä merkittyillä keskiarvoilla oli merkittävyyttä luotettavuustasolla  $p=0,05$ .

Lämpötilan nousu laskee vedon kimmokerrointa 215 MPa:ista 116 MPa:iin. Seuraavan sivun taulukossa (taulukko 11) on esitetty testisarjan tuloksia keskihajontoineen. Lämpötilan korottaminen tuo polymeerirakenteeseen energiaa. PCL:n puolikiteisessä rakenteessa alkavat kiderakenteet avautua ja polymeeriketjut liukua toistensa ohitse. Energian lisääntyessä korkeissa lämpötiloissa polymeerisidokset alkavat katkeilemaan ja sidosmolekyylit irtomaan, jolloin vedon kimmokerroin laskee. Amorfisten polymeerien kohdalla lämpötilan nousu lisää polymeerin venymää. PCL:n murtovenymäprosentit kasvoivat 37°C:ssä asteessa suurimmalla osalla testatuista materiaaleista. 40°C:ssä ja tätä korkeimmissa lämpötiloissa murtovenymäprosentit laskivat rajusti. Lyhyen venymän PCL:illä murtopinnat muistuttivat enemmän hauraan kuin elastisen materiaalin murtopintoja. Kuvan 27 yläosassa on elastisesti venynyt koesauva ja alapuolella heti kokeen alussa katkennut sauva.



**Kuva 27.** Vetokoesauvojen katkeamispinnat elastisesti venyneellä ja hauraasti murtuneella näytteellä.

Korkeissa lämpötiloissa polymeeriketjujen liike on lisääntynyt. Korkeissa lämpötiloissa energia on voinut pilkkoa polymeeriketjuja jo niin paljon, etteivät ne pysty enää liukumaan toistensa lomitse ja vastustamaan niihin kohdistettua voimaa. Lämmön vaikutuksesta polymeeriketjut katkeavat ja silloittuvat. Vetolujuus laskee, jos katkenneita ketjuja on enemmän suhteessa silloittuneiden ketjujen määrään. Lasketuissa

murtovenymäprosentteissa oli suurta hajontaa, jotka saattoivat osaksi johtua koekappaleiden valuvaiheessa polymeerin sisälle jääneistä ilmakuplista. Ilmakuplat ja epäpuhtaudet toimivat murtumien ydintyminä.

Tilastollisen merkittäviksi osoittautuivat vetolujuuksien ja kimmokertoimien arvoissa suurimmat lämpötilan nostot huoneenlämpötilasta 37°C:een. Kahden tai kolmen asteen vaihteluilla ei löytynyt tilastollista merkittävyyttä kokeeseen asetettujen rajojen sisällä. Kimmokertoimien tuloksissa oli samankaltainen ilmiö.

**Taulukko 11.** T6250-0.84 materiaalin vetokokeista saadut myötö- ja murtovenymäprosentit, sekä lasketut kimmokertoimet. Tähdellä merkittyillä keskiarvoilla oli merkitsevä ero luottottavuustasolla  $p=0,05$ .

Lämpötila	Myötövenymä (%)±SD	Murtovenymä (%)±SD	Kimmokerroin (MPa)±SD
23°C	19±2	360±190	210±12*
37°C	18±2	71±40	150±17*
40°C	21±3	90±21	140±26
42°C	19±3	51±21	120±16
45°C	16±2	23±2	120±8

Teknisen PCL-laadun ja lääketieteellisen PCL-laadun erona on niiden puhtausaste. Teknisessä laadussa ilmenee enemmän epäpuhtauksia kuin lääketieteellisessä laadussa. Vetokokeiden tulosten perusteella ei saman keskimääräisen molekyylipainon PCL:n teknisen laadun ja lääketieteellisen laadun polymeereillä ole merkittävää eroa vetolujuuksissa. Teknisen laadun epäpuhtaudet saattoivat toimia murtumakohtien ydintyminä, joka voisi selittää murtovenymäprosenttien suuret hajonnat. Alla olevassa taulukossa (taulukko 12) on esitetty osissa eri testatut polymeerit. Ensimmäisessä sarakkeessa on merkitty teknisen laadun tuloksia, toisessa lääketieteellinen molekyylipainoltaan teknistä laatua vastaavan PCL:n tuloksia, sekä kolmannessa osiossa suurimolekyylipainoisen lääketieteellisen laadun tuloksia. Mann-Whitneyn tilastollisen menetelmän mukaan lasketut merkitsevät erot on merkitty tähdellä. Eroja on vertailtu saman laatikon sisällä oleviin tuloksiin. Kaikilla PCL:eilla testauslämpötila oli tilastollisesti merkitsevä parametri.

**Taulukko 12.** Tutkittujen PCL:ien mekaanisia ominaisuuksia hajontoineen vetokokeissa.

Polymeeri	Lämpötila (°C)	Vetolujuus (MPa)	Myötövenymä (%)	Murtovenymä (%)	Kimmokerroin (MPa)
T6400-0.89	23	17±2	16±5	180±210	230±13
T6400-0.89	37	14±2	18±2	70±17	190±14
T6250-0.83G	23	17±2	11±2	25±7	240±13
T6250-0.83G	37	13±1	12±1	18±1	180±9
L921-0.93	23	18±1	12±2	220±230	260±10*
L921-0.93	37	14±1	13±4	350±150	190±30
L921-0.85G	23	19±1	22±8	240±220	220±11*
L921-0.85G	37	13±1	19±5	100±120	180±13
L921-0.83-2G	23	18±1	19±6	80±140	250±11
L921-0.83-2G	37	14±1	15±2	60±70	190±12
LRC-1.0	23	18±4	13±3	110±0	270±12*
LRC-1.0	37	22±2	17±4	780±56	220±30
LRC-0.93G	23	20±1	16±3	200±240	200±11*
LRC-0.93G	37	15±1	110±34	110±34	110±10

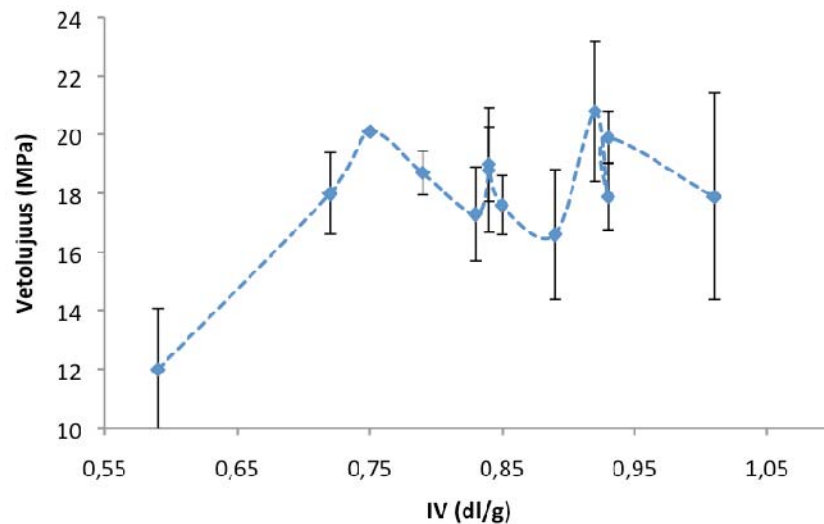
Gammasteriloinnilla oli suurempi vaikutus PCL:n elastisuuteen kuin sen vetolujuuteen. PCL:in elastisuus katosi kokonaan steriloiduilla laaduilla. Tulokset ovat yhtäläisiä aikaisempien kirjallisuudesta löytyvien tulosten kanssa. PCL:n vetolujuus saattaa lisääntyä, mutta elastiset ominaisuudet kärsivät ionisoivasta säteilysteriloinnista. Poikkeuksena oli L921-0.85G, jonka venymä vaihteli 1-6 mm välillä. Liitteessä B on esitetty kyseisen materiaalin voima-siirtymäkäyrä, mistä ilmenee tarkemmin elastisuuden vaihtelu.

Vetolujuuteen gammasteriloinnilla ei ollut suurta vaikutusta. Lujuudet muuttuivat  $\pm 1,1-2,0$  MPa. L921- polymeeristä testattiin yhden ja kahden syklin steriloinnin vaikutusta. Kimmokertoimissa oli eroja. Kertaalleen sterilointi alensi kimmokerrointa keskimäärin 36 MPa:ia.

Vetokokeiden viimeisessä vaiheessa tutkittiin keskimääräisen molekyylipainon vaikutusta vetolujuuksiin. RDT:ksi nimetty testisarja sisälsi lääketieteellisen laadun PCL näytteitä, joiden keskimääräinen molekyylipaino vaihteli alhaisen  $M_w$  PCL:ista (L962-0.49) korkeaan (L966-0.92). L962-0.49 materiaalista ei voitu valmistaa koesauvoja materiaalin haurauden vuoksi. Kappaleet katkesivat jo muotista irroitettaessa. RDT koesarjan PCL:t ovat vertailukelpoisia keskenään, sillä ne ovat kaikki saman valmistajan lääketieteellisen laadun polymeerejä. Vetolujuuksien kasvavaa trendiä suhteutettuna niiden molekyylipainoon voidaan nähdä seuraavan sivun pylväsdiagrammista (kuva 29). Kuvassa tähdellä merkittyjen huoneenlämpötilassa vedettyjen sauvojen arvot ovat toisiinsa nähden merkitseviä luottettavuustasolla  $p=0,05$ . Korotetussa lämpötilassa tähdellä merkittyjä merkitseviä arvoja verrataan saman materiaalin 21°C:n tuloksiin.

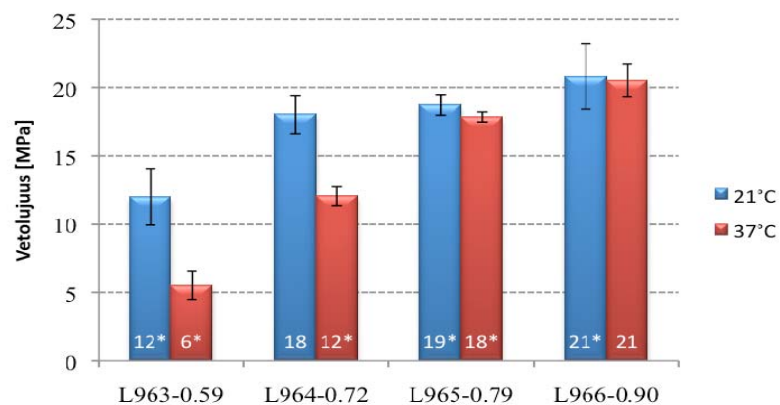
Kaikkien testattujen PCL-materiaalien vetolujuuksien tulokset eivät noudattaneet yhtä lineaarista käyttäytymistä suhteessa molekyylipainoon kuin edellä mainittiin.

Seuraavassa kuvassa 28 on esitetty PCL:ien vetolujuuksien muutos verrattuna niiden IV-tuloksiin. Lujuudet vaihtelevat L963-0.59:n 12 MPa:ista L966-0.92:en 21 MPa:iin. Tulosten arvot ovat samassa linjassa aikaisemmin kirjallisuudessa ilmenneisiin arvoihin.



**Kuva 28.** Vetolujuuksien suhde IV-tuloksiin. Kuvaajassa näkyvät kaikkien testattujen PCL:ien vetolujuudet.

Lämpötilan korottamisella on tulosten mukaan suurempi vaikutus materiaalin lujuuteen kuin molekyylipainon kasvamisella. Kuvan 29 pylväissä tähdellä merkittiin tilastollisesti merkittäviä keskiarvojen eroja. Ainoastaan L966-0,90:lla lämpötilan korottaminen ei merkitsevästi laskenut vetolujuutta. Suuremman molekyylipainon materiaaleilla ero ei ole niin suuri kuin alhaisen molekyylipainon ja steriloidun materiaalin vetolujuuksien arvoissa. 21°C:ssa vedettyjen sauvojen vetolujuudet muuttuivat merkittävästi molekyylipainon kasvaessa. Poikkeuksena tässä sarjassa oli L964-0,72:n arvo, joka ei merkittävästi eronnut L963-0,59:n lujuudesta.



**Kuva 29.** RDT-sarjan vetolujuudet hajontoineen kahdessa eri lämpötilassa.

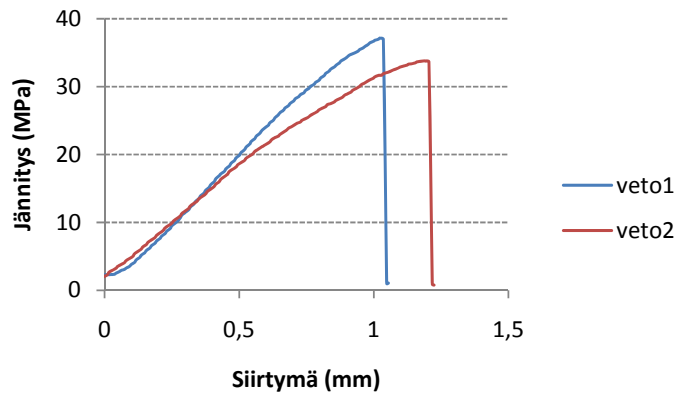
**Taulukko 13.** RDT-sarjan mekaaniset ominaisuudet hajontoineen vetokokeissa.

Polymeeri	Lämpötila	Myötövenymä (%)	Murtovenymä (%)	Kimmokerroin (MPa)
L963-0.59	23°C	7±2	8±1	250±18
L963-0.59	37°C	7±1	9±1	160±7
L964-0.72	23°C	15±4	15±4	230±18
L964-0.72	37°C	14±3	14±3	190±12
L965-0.79	23°C	18±3	56±46	230±25
L965-0.79	37°C	18±1	580±24	150±13
L966-0.92	23°C	20±5	670±81	210±29
L966-0.92	37°C	22±4	-	190±5
L965-0.75G	23°C	16±4	16±4	300±5
L965-0.75G	37°C	15±2	15±2	200±20

Alhaisen molekyylipainon L963-0.59 polymeerillä oli selkeästi alhaisempi vetolujuus ja murtovenymäprosentti. Tämä johtuu alhaisen molekyylipainon polymeerirakenteesta. Polymeeriketjut eivät ole kietoutuneet yhtä tiiviisti toistensa ympärille ja niiden välissä ei ole sidosmolekyylejä kuin vastaavilla pitkäketjuisilla polymeereillä. Rakente on löyhä eikä pysty vastustamaan samalla tavalla siihen kohdistettua voimaa.

Yleisesti kirjallisuudessa annetaan PCL:n elastisuusprosentiksi 600-800% (Perstorp; Grosvenor & Staniforth 1996). Suuremman molekyylipainon polymeerien murtovenymäprosenttien arvot sijoittuvat tähän haarukkaan. Taulukossa 13 on esitelty RDT sarjalle saadut myötö- ja murtovenymäprosentit. Tarkemmin erot voi nähdä liitteessä B esitetyissä RDT -sarjan voima-siirtymäkäyrissä. Tulosten perusteella vetolujuus kasvaa merkittävästi RDT -sarjassa molekyylipainon kasvaessa. Huomiot ovat yhdenmukaiset Grosvenor & Staniforth (1996) tulosten kanssa. Heidän tutkimuksessaan oli käytetty alhaisemman molekyylipainon PCL:a, mutta vetolujuuden lineaarinen kasvu näyttää toteutuvan myös suuremmilla molekyylipainon PCL:eilla. (Grosvenor & Staniforth 1996) Suuren molekyylipainon PCL:eilla ei ole suurta vaihtelua vetolujuudessa ja arvot liikkuvat välillä 17-20 MPa. Sarjan kimmokertoimien arvoissa ei ollut merkittävää eroa toisiinsa.





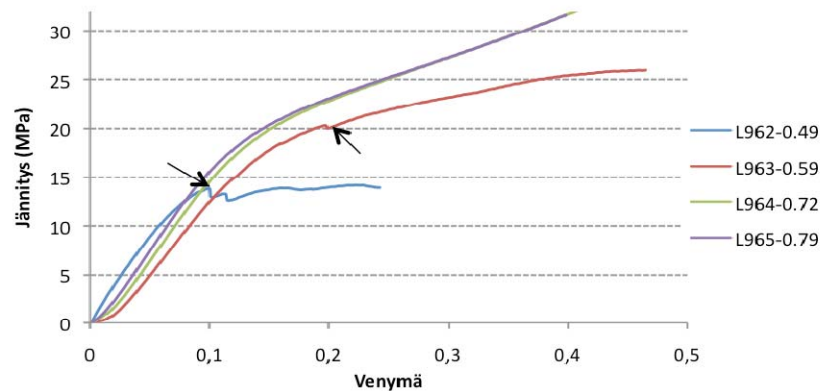
**Kuva 30.** *Palacos<sup>R</sup>:n vetokokeen jännitys-siirtymäkäyrät.*

Koejärjestelyistä aiheutuvien virheiden huomioimiseksi, valettiin verokkimateriaaliksi valitusta Palacos<sup>R</sup>-luusementistä vetokoesauvat samoilla PTFE-muoteilla. Sementtipyssyn suuren kärjenhalkaisijan ja paineen vuoksi valmistettiin näytteet avonaiseen muottiin. Jähmettyneistä kappaleista leikattiin ylimääräiset osat pois kuviosahalla ja kappaleet hiottiin oikeaan muotoonsa. Vetokokeen jännitys-siirtymäkäyrä näkyy yllä olevassa kuvassa (kuva 30). Jännitysten keskiarvoksi saatiin 35 MPa:ia. Tulos on Hassenwinkel et al. (2008) ilmoittaman PMMA-sementin vetolujuuden suuruisen (Hassenwinkel et al. 2008). Toisesta kirjallisuudesta löytyneestä vetolujuuden arvosta saatu tulos poikkeaa 20 MPa:ia (Spierings 2005).

### 7.2.2. Puristuslujuus

Puristuskoeapinien lujuutta mitattiin puristuskoeikäyrän myötymäkohdasta. Jännitys-venymäkäyrästä voidaan nähdä alun voiman lineaarisen kasvamisen jälkeen pieni notkahdus ennen lopun lineaarista osuutta. Notkahduksen aikana koeapit alkoivat litistyä tynnyrimäisesti ja materiaalissa tapahtui pysyvää muodonmuutosta. Litistyminen jatkui voiman lisääntyessä, joten tämän vuoksi puristus lopetettiin 3.5 kN kohdalla kaikilla napeilla.

Instron IX<sup>TM</sup> -ohjelman tuloksista piirettiin jännitys-venymäkäyrille MatLab -ohjelmalla (The Mathworks<sup>TM</sup>, Massachusetts, USA) alun nousun käyrän tangentti ja myötymäkohdan jälkeisen käyrän tangentti. Tangenttien leikkauskohdan voimasta laskettiin myötölujuus jakamalla se venymällä. Puristuskimmokerroin laskettiin samalla kaavalla (kaava 3) kuin vedon kimmokerroin. Kuvassa 31 on vertailtu RDT sarjan puristuskoeikäyrien muotoja toisiinsa.



**Kuva 31.** RDT sarjan puristuskoeapinien venymä-jännityskäyrät.

RDT-sarjalla tutkittiin lääketieteellisen PCL:n keskimääräisen molekyylipainon vaikutusta materiaalin puristuslujuuksiin ja kimmokertoimiin. Kahdella alhaisimmalla molekyylipainolla puristuskoeapaleet halkesivat kokeen aikana. Jännitys-venymäkäyriksissä halkeilu näkyy nuolien osoittamissa notkahduskohdissa. Kuvassa 32 on esitetty haljennut puristuskoeapale L962-0.49 materiaalista.



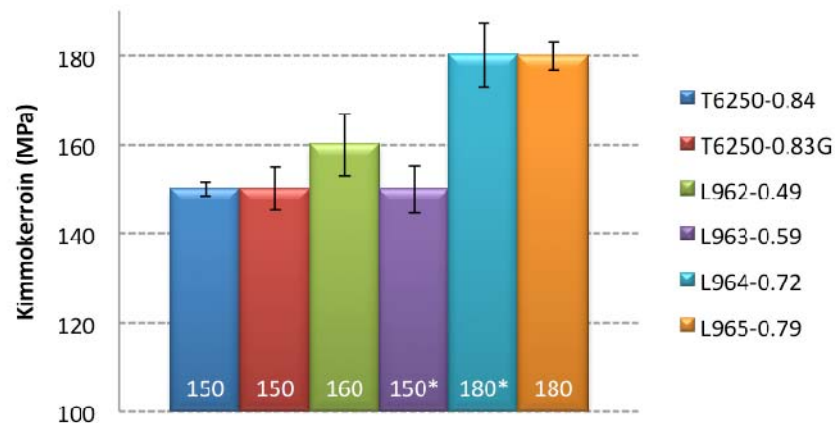
**Kuva 32.** Haljennut puristuskoeapale L962-0.49 materiaalista.

Kimmokertoimien arvoissa ei nähdä suoranaista yhtäläisyyttä molekyylipainon vaihtelun välillä. Kimmokertoimien vaihtelut näkyvät pylväsdiagrammissa (kuva 33). Ainoastaan materiaalien L963-0.59 ja L964-0.72 keskiarvoilla oli tilastollista merkittävyyttä silloin kun sarjan polymeerit oli asetettu järjestykseen kasvavan molekyylipainon mukaan. Puristuskimmokertoimet laskettiin käyrien lineaariselta osuudelta välillä 0,5-1 kN. Teknisen T6250-0.84 ja lääketieteellisen L965-0.79 polymeerien molekyylipainot vastaavat lähes toisiaan. Kimmokertoimissa on kuitenkin 30 MPa:in ero. Mielenkiintoinen huomio on, etteivät teknisen PCL:n koenapit haljenneet samalla tavalla kuin alhaisen molekyylipainon PCL, vaikka kimmokertoimet ovat lähes samansuuruiset. Puristuslujuudet vaihtelivat 16 MPa:in ja 22 MPa:in välillä. Tarkemmat erot näkyvät taulukossa 14.

**Taulukko 14.** Puristuskokeen antamat puristuslujuudet. Tähdellä merkittyillä keskiarvoilla on merkittävä ero edelliseen keskiarvoon luotettavuustasolla  $p=0,05$ .

<i>Materiaali</i>	<i>Puristuslujuus (MPa)</i>	<i>Kappaleiden lkm. (n)</i>
<i>T6250-0.84 (21°C)</i>	<i>19±0,4</i>	<i>5</i>
<i>T6250-0.84 (37°C)</i>	<i>14±1,5*</i>	<i>5</i>
<i>T6250-0.83G (21°C)</i>	<i>19±1,5</i>	<i>5</i>
<i>T6250-0.83G (37°C)</i>	<i>13±1,5</i>	<i>4</i>
<i>L962-0.49</i>	<i>16±2,5</i>	<i>2</i>
<i>L963-0.59</i>	<i>20±0,7*</i>	<i>3</i>
<i>L964-0.72</i>	<i>22±1,6</i>	<i>3</i>
<i>L965-0.79</i>	<i>20±1,3</i>	<i>2</i>

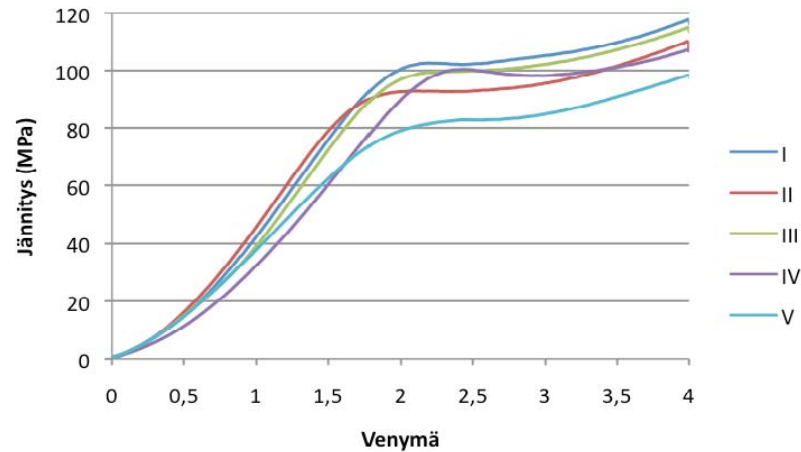
Puristuskokeen tuloksista voidaan todeta, että PCL:n puristusominaisuuksiin vaikuttaa testatuista parametreista eniten lämpötila. Teknisen ja lääketieteellisen laadun materiaaleilla löytyi eroavuutta enemmän jäykkyydessä kuin lujuusominaisuuksissa.



**Kuva 33.** Puristuskimmokertoimien arvot keskihajontoineen. Tähdellä merkityillä keskiarvoilla on merkitsevä ero toisiinsa luottettavuustasolla  $p=0,05$ .

Gammasteriloinnilla ei ole suurta vaikutusta teknisen laadun PCL:n puristuslujuuksiin tai kimmokertoimiin. Huoneenlämpötilassa puristuslujuus sterilioimattomille ja steriloiduille materiaaleille oli sama 19 MPa. Lämpötilan korottamisella oli jälleen suurempi vaikutus PCL:n mekaanisiin ominaisuuksiin kuin steriloinnilla, kuten vetokokeissa aikaisemmin todettiin. Sterilioimattomalla PCL:illa puristuslujuus laski materiaalilla 25,2%:ia 14MPa:iin ja steriloidulla 30,9%. Taulukossa 14 on kerrottu puristuslujuuksien arvot keskihajontoineen. Steriloinnilla ei ole tulosten mukaan tilastollista merkittävyyttä PCL:n puristuslujuuteen. Puristuskoeikäyrät sekä niistä lasketut kimmokertoimien arvot ovat yhtäläisiä verrattuna aikaisemmin kirjallisuudessa esiintyneisiin tuloksiin (Ang et al. 2006; Olah et al. 2006; Eshraghi & Das 2010). Kimmokertoimen pysyminen samalla tasolla (kuva 33) steriloinnin jälkeen viittaa siihen, etteivät PCL:n polymeeriketjut silloitu steriloinnin vaikutuksesta. Sen sijaan lämpötilan nosto odotetusti laski kimmokertoimen arvoja. Lasku oli steriloidulla ja sterilioimattomalla PCL:llä 9%:ia.

Aikaisemmin todettiin että puristuskoeappaleiden dimensioilla on merkitystä saatuihin tuloksiin. PCL:in tuloksien vertailtavuudesta muiden materiaalien mekaanisiin ominaisuuksiin haluttiin varmistua, joten puristuskoe tehtiin myös sellaiselle aineelle, jonka mekaaniset arvot ovat yleisessä tiedossa. Verrokkimateriaaliksi valittiin laajasti luusementti käytössä markkinoilla oleva PMMA. Kahdella Herauksen Palacos<sup>R</sup> merkkisellä PMMA-sementillä: Palacos<sup>R</sup> R ja Palacos<sup>R</sup> LV, on erona niiden viskositeetti-arvot. Palacos<sup>R</sup> R:ään on myös lisätty antibioottia. Heraeus:en antamien tietojen mukaan suuremman viskositeetin Palacos<sup>R</sup> R:llä puristuslujuus on 91 MPa:ia ja kimmokerroin 2870 MPa:ia. Palacos<sup>R</sup> LV:n vastaavat tiedot ovat 94 MPa:ia ja 2830 MPa:ia. (Kuehn et al. 2005)

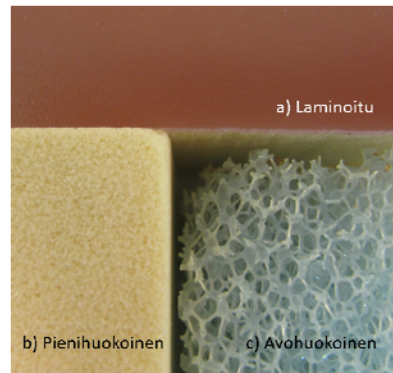


**Kuva 34.** *Palacos<sup>R</sup> LV:n jännitys-venymäkäyrä viidellä näytteellä.*

Puristuslujuuksiksi saatiin kokeessa *Palacos<sup>R</sup>* R:lle  $95 \pm 8$  MPa:ia ja *Palacos<sup>R</sup>* LV:lle  $102 \pm 2$  MPa:ia. Tulokset ovat hyvin lähellä kirjallisuudesta löytyviä tuloksia (Kuehn et al. 2005). Tämän tiedon pohjalta voidaan PCL:lle tehtyjen puristuskokeiden lujuusarvoja pitää vertailukelpoisina.

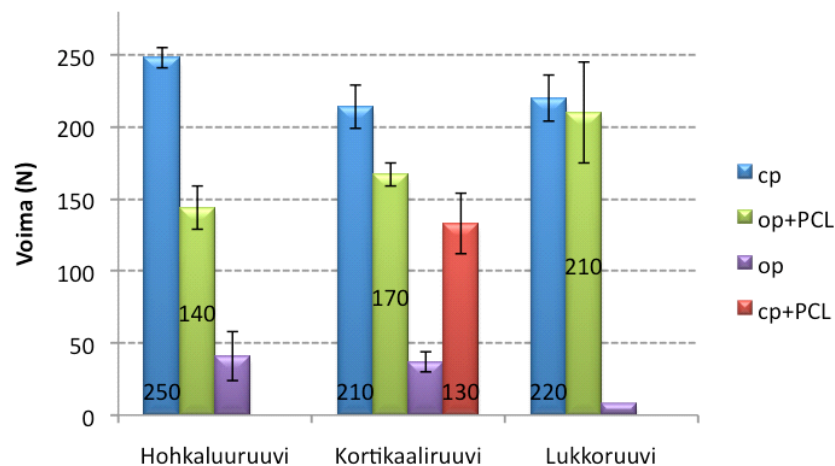
### 7.2.3. Ruuvien ulosvetokoe

Luu korjaamiseen tarkoitettujen ruuvien dimensioilla on vaikutusta ruuvien ulosvetolujuuteen. Hohkaluuruuvien suuremmat kierteet on tarkoitettu ankuroimaan ruuvi paikoilleen hauraamassakin alustassa kuten osteoporootisessa luussa. Kirjallisuuden perusteella terveen hohkaluun tiheys vaihtelee välillä  $0,09\text{--}1,25 \text{ g/cm}^3$ . Pienihuokoista, tervettä kokoluuta mallensi laminoitu komposiittirakenne (kuvassa 35 kohta a) sekä hohkaluuta tiheydeltään  $0,16 \text{ g/cm}^3$  oleva pienihuokoinen alusta (kuvassa 35 kohta b). Avohuokoisen alustan (open pore, op) tiheys oli  $0,12 \text{ g/cm}^3$  (kuvassa 35 kohta c). Kuvasta näkyy selvästi testausalustojen rakenteelliset erot. Ilman laminaattia olevasta pienihuokoisesta alustasta vedettyjen ruuvien pitovoimista tutkittiin hohkaluuruuvien, kortikaaliluuruuvien ja lukkoruuvien rakenteellisten vaihteluiden tuomia eroja niiden pitovoimiin. Hohkaluuruuvien ulosvetoon tarvittava voima pienihuokoisesta (close pore, cp)- alustasta oli  $250 \pm 7$  N. Huokoisessa alustasta tarvittava voima putosi murto-osaan eli 40 N:iin. Eron huomasi jo ruuvien paikalleasennuksen yhteydessä. Hauraan alustan huokoiset murtuivat ruuvaamisen yhteydessä.



**Kuva 35.** Ruuvien ulosvedossa käytettyjen alustamateriaalien rakenteet.

Murtuessaan pienihuokoinen alusta on jauhomaista kun vuorostaan avohuokoinen alusta varisee pieninä polymeeritankoina. Ruuvien ulosvedossa jauhomainen PUR -aine jää kierteiden väliin. Avohuukoista alustasta vedettäessä ruuvien kierteisiin ei jää alustan materiaalia kiinni. Hohkaluuruuvilla kierteiden väliin jää enemmän jauhomaista materiaalia kuin lukkoruuvien pieniin nousuihin, joka näkyy 28 N:n erona ulosvetolujuuksissa. op-alustasta ruuvit voidaan vetää ulos käsin, sillä tarvittavat voimat ovat alle 50 N:ia.



**Kuva 36.** Eri ruuvityypeille mitatut ulosvetolujuudet polymeerin kanssa ja ilman.

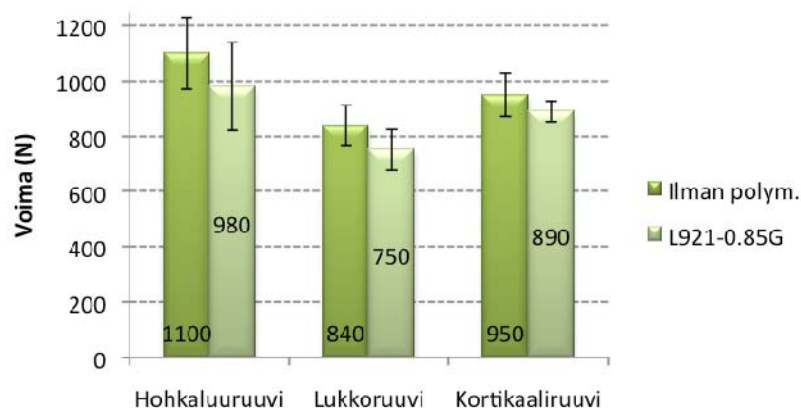
Ruuvien ohjausreikiin injektoidu polymeeri op-alustassa parantaa ruuvien pysyvyyttä huomattavasti. cp-alustoissa polymeeri estää ruuvien kierteiden pureutumisen alustaan ja muodostaa ruuvien ympärille tulpan. Tällöin ruuvien kiinnittävä voima riippuu polymeerin ja PUR-alustan materiaalien kiinnittymisestä toisiinsa. Kortikaaliruuville tehtiin viiden ruuvien koesarja cp -alustasta, mihin ohjausreikään oli injektoidu PCL:ää. Ulosvetovoima oli  $130 \pm 21$  N.

Ruuvattaessa hohkaluuruuvia paikoilleen avohuokoiseen alustaan alkoivat polymeerin ympärillä olevat huokoisia muodostavat PUR-seinämät katkeilla. Tämän vuoksi päädyttiin käyttämään ainoastaan 10 mm ruuvaussyvyyttä. Ulosvedetyt ruuvit toivat mukanaan injektoidun polymeerin alla olevan kuvan (kuva 37) mukaisesti. Avohuokoisella alustalla tehty testi kuvaa enemmän alustamateriaalin mekaanisia ominaisuuksia. Injektoitu polymeeri pääsee levittäytymään huokoisien sisään ja kiinnittyy suurempaan määrään ympäröivää materiaalia kuin pelkän ruuvin kierteet. Ruuvien ja polymeerin välisessä kiinnittymisessä ei kokeiden aikana huomaitu minkäänlaista liikettä tai murtumista.



**Kuva 37.** Huokoisesta alustasta vedetyt hohkaluuruuvit. Kuvassa turkoosit alueet ovat ulosvetokokeessa polymeeriin kiinnittyneitä alustan osia.

Avohuokoinen materiaali ei vastaa todellista tilannetta, sillä rakenteesta puuttuu luun kaltainen komposiittirakenne, jossa luun uloin kerros kortikaaliluu tuo lisää mekaanista lujuutta luulle. Laminoidulla cp-alustalla (lcp) mallinnetaan luun komposiittirakennetta. Aikaisemmista kokeista voitiin päätellä, ettei injektoidu polymeeri ainakaan merkittävästi tule parantamaan ruuvien kiinnittymistä lcp-alustaan. Testijärjestelyjen ensimmäinen ongelma ilmeni ruuvien ruuvaamisessa alustaan. Koska ruuvien keskihalkaisijat olivat suuremmat kuin ohjausreikä sekä laminaatti on kova ja hauras materiaali, murtui reiän ympäröivä laminaatti jo ruuvien sisäänruuvausvaiheessa. Ongelma ratkaistiin käyttämällä ruuvinvalmistajan määrittelemää saattoreikää. Lukkoruuveille ei valmistajan ohjeista löytynyt oikeaa saattoreiän kokoa, joten valittiin sisähalkaisijan kokoinen reikä. Aikaisemmassa taulukossa (taulukko 10) voidaan nähdä eri ruuveille käytettyjen ohjausreikien koot, saattoreikien koot sekä mahdollinen kierteistys.

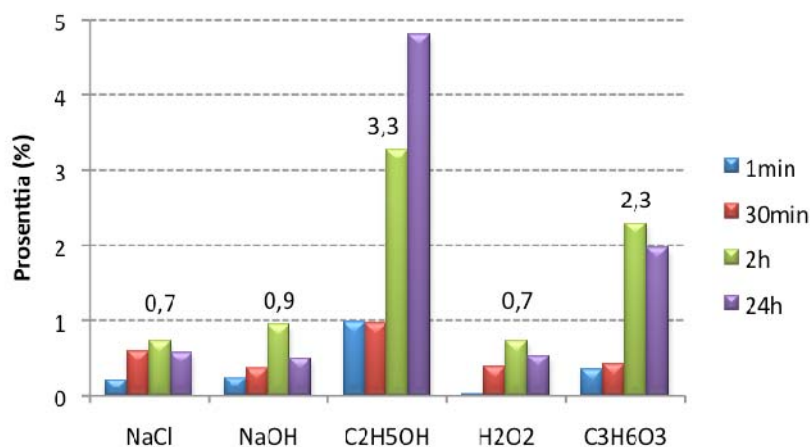


**Kuva 38.** Ulosvetokokeen tulokset lcp-alustasta vedetyille ruuveille.

Tulokset osoittivat ensimmäisen oletuksen oikeaksi: injektoitu polymeeri ei parantanut ruuvien pysyvyyttä lcp-alustassa. Tosin, tilastollisesti merkittäviä eroja ei kokeessa ilmennyt.

### 7.3. Kemiaallinen kestävyys

PCL:n liukenevuutta liuottimiin voidaan ennustaa jossain määrin tutkimalla liuottimen funktionaalisia ryhmiä. Kemiaallisen kestävyden kokeessa havainnointiin silmämääräisiä muutoksia sekä painollisia ja pituudellisia muutoksia teknisestä PCL-laadusta valmistetuissa kappaleissa. Kaikilla muilla paitsi tetrahydrofuraanissa (THF) muutoksia tapahtui ainoastaan painossa. Pienet mittojen muutokset osoittautuivat enemmän mittaajan tekemiksi virheiksi kuin varsinaisista materiaalin muutoksista johtuviksi. Mittausmuutoksia näkyy liitteenä B olevassa kemiallisen kestävyden taulukossa.

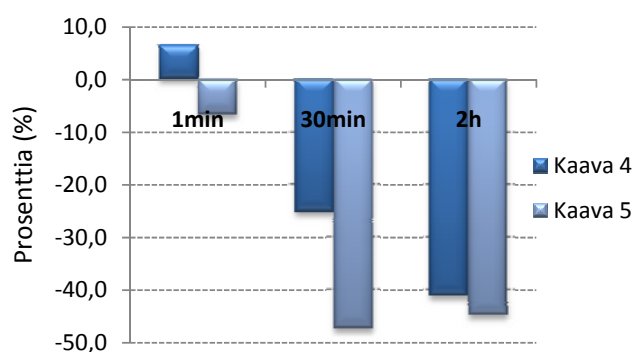


**Kuva 39.** Massan prosentuaalinen muutos laskettuna ennen kokeen jälkeistä kuivatusta.



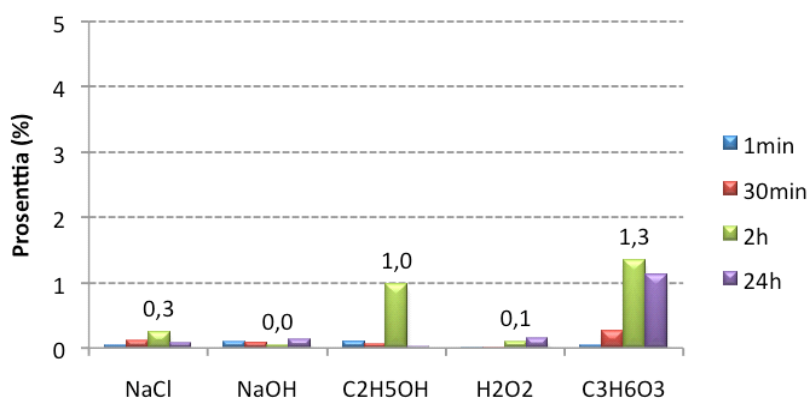
Mittaustuloksista laskettiin kaavalla 4 painon muutosprosentti siten, että jälkimmäinen paino ( $m_2$ ) mitattiin heti kokeen jälkeen. Tällöin kappaleessa saattoi olla vielä pesun jälkeisiä jäämiä tislatusa vedestä.

Odotetusti THF liuotti kappaleet. THF:llä muutokset näkyivät jo pienissäkin ajoissa. Minuutin jälkeen koekappaleen paino oli noussut 6,6%. Koetta jatkettaessa 30 minuutin jälkeen oli polymeerin massasta hävinnyt 25 %:ia ja lämmityksen aikana 41%:ia. Lämmitys keskeytettiin 40 minuutin jälkeen, sillä koeputkessa ei näkynyt polymeeriä olevan enää jäljellä. THF:n poiston jälkeen koeputken reunoille jähmettyi kuitenkin jonkin verran polymeeriä, joka pystyttiin vielä punnitsemaan.



**Kuva 40.** THF:n massan muutosprosentit laskettuna ennen kokeen jälkeistä kuivatusta.

Pylväsdiagrammissa (kuva 41) vihreä palkki edustaa kahden tunnin vesihaudetta, jolla saatiin aikaiseksi korotetun lämpötilan ympäristö. Lämmittäminen osoittautui tehostavan liuosten vaikutusta.

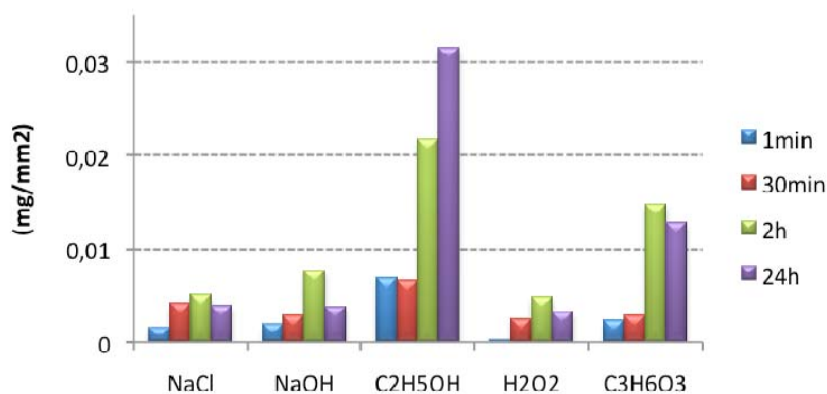


**Kuva 41.** Massan prosentuaalinen muutos kuivatuksen jälkeen.

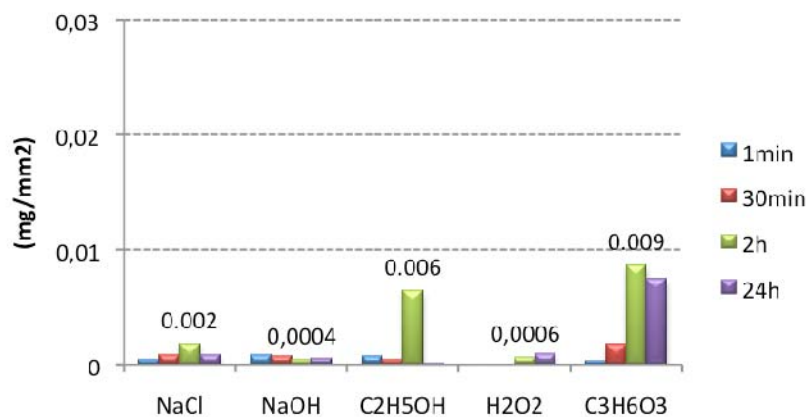
Kaavassa kaksi on eliminoitu mahdolliset haihtuvat osat kuivattamalla näytteitä kokeen jälkeen kaksi tuntia vakuuissa. Maitohapolla oli toiseksi suurin vaikutus kappaleiden massa, mutta myös etanolissa kahden tunnin lämmityksen aikana oli massa lisääntynyt prosentin verran. Kuten kuvien (kuvat 41 ja 42) eroista voidaan huomata, ei muilla liuottimilla ole suurtakaan merkitystä kuivatuksen jälkeen. THF:n

vaikutus jatkui liuottimen poiston jälkeen sillä koekappaleiden paino laski edelleen. Minuutin kokeen tulos kaavalla kaksi oli vähennystä 7 %:ia, 30 minuutin kokeella 48 %:ia ja lämmityksestä 45 %:ia.

Kolmas ja neljäs kaava huomioi massan muutoksen pinta-alan suhteen. Paino lisääntyi etanolilla kahden tunnin kokeessa  $0,03 \text{ mg/mm}^2$  (kuva 42). Muutos hävisi lähes täysin kuivatuksen jälkeen (kuva 43). Maitohapolla muutos oli kuivatuksen jälkeen  $0,09 \text{ mg/mm}^2$ . THF:llä muutokset kuivatuksen jälkeen olivat  $-0,04 \text{ mg/mm}^2$ ,  $-0,29 \text{ mg/mm}^2$  ja  $-0,4 \text{ mg/mm}^2$ .



**Kuva 42.** Massan muutos suhteutettuna kappaleen pinta-alaan ennen kokeen jälkeistä kuivatusta.



**Kuva 43.** Massan muutos suhteutettuna kappaleen pinta-alaan kappaleiden kuivatuksen jälkeen.

NaCl ja NaOH eivät sisällä sellaisia funktionaalisia ryhmiä (kuvan 12 a, b, c), jotka voisivat liuottaa PCL:ia. Maitohapon karboksyyli ryhmä (COOH) voi parantaa liukenevuutta. Tämä ilmeni tuloksissa pieninä muutoksina kahden ja 24:n tunnin

kokeissa. THF:n rakenteessa on aromaattinen rengas, joten THF kokeellinen tulos oli samassa linjassa kirjallisuuden tietojen kanssa.

NaOH:ssa ja etanolissa on alkoholiryhmä. Rakenteen alkoholiryhmä alentaa liuottimen vaikutusta (Perstorp). Tuloksissa nähtiin kuinka etanoli lisäsi PCL:n painoa 1 prosentin kahden tunnin lämmityksen aikana. Lämpötilan nostaminen tuo polymeerirakenteeseen energiaa, joka lisää polymeeriketjujen liikettä. Liuos pääsee helpommin rakenteen sisään. Painon laskua ei kuitenkaan huomioitu, joten oletettavasti muut liuottimet paitsi THF ei hajottanut polymeeria. Laboratoriotavaroiden pesussa etanoli auttoi irrottamaan pinnoille jähmettynyttä PCL:ia. Tämän huomion avulla voidaan päätellä että etanolilla on vähäistä vaikutusta PCL -rakenteeseen.

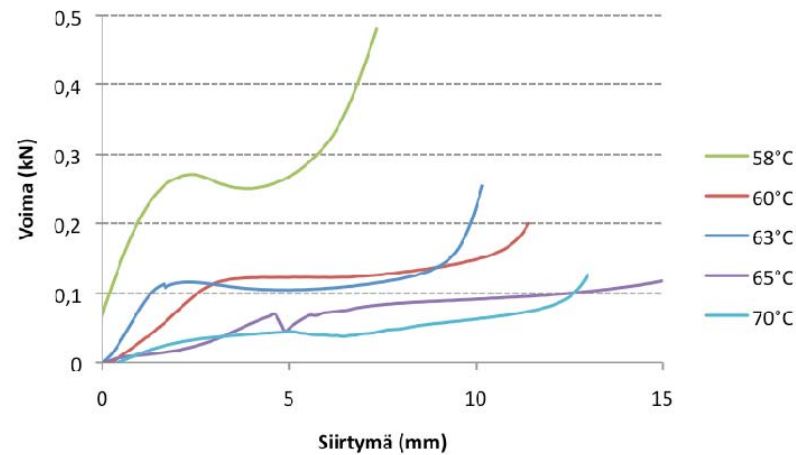
Standardin mukaan 24 tunnin kokeen tuloksilla on merkittävyttä toteamaan aineen käyttäytymistä eri liuksissa. Ainoastaan THF:n voidaan sanoa liuottavan PCL:ia. Maitohapolla ja etanolilla on vähäistä vaikutusta PCL rakenteeseen.

Jokaisesta näytteestä tehtiin kolmet rinnakkaiset testit. Mittaustuloksissa oli pientä hajontaa. Hajontojen ja pienten erien vuoksi tuloksista ei voitu tehdä tilastollista määrittystä. Liitteessä C on esitetty kemiallisen kokeen testaustaulukot. Näistä taulukoista huomataan, että osalla kappaleista oli pientä painon alenemaa, joka kuitenkin kumoutui keskiarvoa määritettäessä.

## 7.4. Injektoitavuus

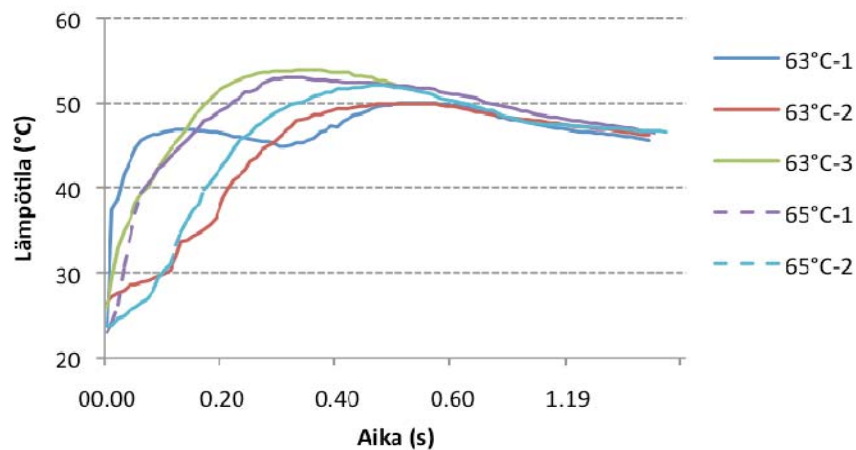
Injektoitavuuskokeissa tarkkailtiin kahta eri parametria: voimaa, joka tarvitaan puristamaan ruiskun mäntää, sekä ulostulleen polymeerin lämpötilan muutosta ajan funktiona. Polymeerin injektointiin tarvittava voima on riippuvainen sulan polymeerin viskositeetista. Korotetussa lämpötilassa polymeerin molekyylien väliset vetovoimat eivät enää pysty vastustamaan lisääntynyttä molekyylien liikettä ja neste muuttuu notkeammaksi ja juoksevammaksi. Oletuksena oli, että sulan lämpötilan nostaminen on lineaarisesti yhteydessä nesteen juoksevuuteen.

Voiman vaikutus injektointuun materiaaliin voidaan esittää voiman suhteena männän siirtymään alkuperäisestä pisteestä. Kuten kuvassa 44 nähdään, nousee voima ensin lineaarisesti myötymäkohtaan, joka näkyy selkeimmin lämpötilalla 58°C. Tätä korkeimmilla lämpötiloilla alkaa käyrän tasainen alue, jossa sulaa polymeeriä injektointu ulos vakiovoimalla. Mitä lämpimämpi polymeerisula oli sitä nopeammin alkoi ruiskun päästä valua polymeerimassaa lämpöantureiden päälle. Suurin ero tarvittavassa puristusvoimassa havaittiin alkulämpötilan laskiessa 58 °C asteeseen. Käsien injektointin rajana pidettiin 250 N:ia, joten 58°C asteessa injektointu materiaali tarvitsee suuremmat voimat kuin käsien voidaan saada. 60°C asteessa tarvittiin puolet vähemmän voimaa kuin 58°C:ssä.



**Kuva 44.** Injektoitavuuden voima-siirtymäkäyrät eri lämpötiloissa.

Kokeen aikana nauhoitetuista videoista tutkittiin lämpötilan muuttuminen ajan suhteen ja tulokset esitetään alla olevassa kuvaajassa (kuva 45) lämpötilan ja ajan funktiona. Tarkemmin tuloksista tarkasteltiin 63°C ja 65°C asteen lämpötilat. Näillä lämpötiloilla aloitetussa injektiossa ei vaadittu suuria voimia. Ongelmiksi näissä kokeissa osoittautui tarkan alkulämpötilan mittaaminen sekä antureiden asettelu siten, että polymeerisula koskettaa heti ruiskun kärjestä ulostullessaan lämpöantureita.



**Kuva 45.** Injektoitavuuden aika-lämpötilakäyrät 63°C lämpötilassa.

Kokeen aikana lämpötila nousi korkeimmillaan 54°C:en ja pysyi siellä kolme sekuntia. 70 sekunnin jälkeen kaikkien näyttöiden lämpötilat tasoittuivat alle 46°C:een.

## 8. JOHTOPÄÄTÖKSET

Diplomityön kokeellisen osuuden keskeisimpänä tavoitteena oli tutkia PCL:n molekyylipainon, lämpötilan ja gammasteriloinnin vaikutusta mekaanisiin ominaisuuksiin. Aikaisemmissa tutkimuksissa oli todettu gammasteriloinnista aiheutuvien radikaalien pilkkovan esterisidoksia sekä silloitavan PCL:n polymeeriketjuja (Södergård & Stolt 2002; Oläh et al. 2006; Plikk et al. 2006). IV-tulosten ja mekaanisten kokeiden mukaan näin kävi myös tämän työn PCL:eille. Lämpötila osoittautui kaikista merkittävimmäksi vaikuttajaksi. PCL:n alhaisen sulamislämpötilan vuoksi huoneenlämpötilasta 14°C asteen lämpeneminen aiheuttaa polymeerin pehmenemistä mekaanisten ominaisuuksien kustannuksella.

Mikäli lopputuotteelta halutaan elastisia ominaisuuksia, tulisi kokeellisen osuuden tulosten mukaan valita lääketieteellinen PCL vaihtoehto, jonka IV tulos on lähellä 0,9 dl/g. L921-0,85G oli ainoa gammasteriloitu materiaali testatuista polymeereistä, jonka testisarjasta löytyi elastisesti venyneitä koesauvoja. Suuremman molekyylipainon PCL:eilla vetolujuudet vaihtelivat välillä 18-20 MPa, joka oli samassa linjassa kirjallisuudessa löytyvien arvojen kanssa. Muuten pienillä molekyylipainon vaihteluilla ei ollut merkittävää vaikutusta PCL:n mekaanisiin ominaisuuksiin.

Koejärjestelyiden aiheuttama virhe voitiin poistaa toistamalla koe polymeerillä, jonka mekaaniset arvot ovat yleisessä tiedossa. Materiaaliksi valittiin Palacos<sup>R</sup> PMMA-luusementti. Vetolujuuden arvot erosivat enintään 20 MPa:ia kirjallisuuden arvoista. Puristuslujuuksissa oli keskimäärin 5 MPa:in ero. Näiden tulosten nojalla voitiin todeta koejärjestelyjen onnistuneen ja tulosten olevan vertailukelpoisia muiden kirjallisuudesta löytyvien arvojen kanssa.

Kemiallisen kestävyuden tuloksista voidaan päätellä ettei sairaalassa käytetyillä antiseptisillä aineilla: vetyperoksidilla, 1 M:lla natriumhydroksilla, 0,9 g/mol natriumkloridilla tai 99,5% etanolilla ole vaikutusta PCL:in lyhyillä kosketusajoilla. Korotetussa lämpötilassa etanolin vaikutuksia PCL:in ei tulisi kuitenkaan sivuuttaa. Sulaa PCL:n käsittelyssä käytettyjen laboratoriovälineiden puhdistuksessa etanoli helpotti kovettuneen polymeerin irtoamista muun muassa lasin pinnalta.

PCL:n valmistajan ilmoittama sulamislämpötila oli välillä 58-60°C. Oletuksena todettiin, että materiaalin lämpötilan laskiessa aine jähmettyy ja injektointiin tarvittava voima lisääntyy. Tämä voitiin todistaa kokeellisista injektointituloksista. 58°C asteisen polymeerin injektointiin tarvittiin huomattavasti enemmän voimaa kuin 60°C:lle sulalle. Käsin injektointiin 63-70°C PCL-sula on sopivan viskoosista.

PCL:illa voitiin ankkuroida ruuveja huokoiseen Sawbone<sup>TM</sup> alustaan. 63°C asteista PCL:a oli helppo injektoida alustaan porattuun reikään ja huokoisessa alustassa se levisi

laajalle alueelle. Ruuvien ulosvetovoima kasvoi 25-kertaisesti polymeerin lisäyksen myötä. Tosin koejärjestelyt mittasivat enemmän alustan mekaanisia ominaisuuksia kuin polymeerin tuomaa eroa vetolujuuksiin. Luun komposiittirakennetta on vaikea simuloida synteettisillä materiaaleilla. Ruuvien ulosvetovoimaa tulisi testata eläinperäisillä luilla. Oikean luun käytössä tulee ottaa huomioon monia muuttujia, kuten käytetyn luun tiheys, ottokohta sekä luun käsittely. Kosteassa ympäristössä toteutettu ruuvien ulosvetokoe olisi sopiva jatkumo tässä työssä toteutetulle kokeelle.

Vaikkakin PCL on laajasti tunnettu ja tutkittu biomateriaali, vaatii se lisätutkimuksia jokaisen uuden käyttökohteen kohdalla. Tämä diplomityö keskittyi eri PCL-vaihtoehtojen ominaisuuksiin, jotta voitaisiin valita sopiva vaihtoehto mahdolliselle injektoitavalle tuotteelle. Tässä työssä toteutetuissa kokeissa ei huomioitu PCL:in hydrolyysin tai varastoinnin aikana tapahtuvia muutoksia mekaanisissa ominaisuuksissa. Näiden tutkiminen olisi hyvä toteuttaa projektin edetessä.

Riittävän suuren molekyylipainon PCL:t ovat jonkin verran elastisia gammasteriloinnin jälkeen. Mekaaniset ominaisuudet saattavat jopa parantua tästä käsittelystä. PCL:a voidaan injektoida melko alhaisissa lämpötiloissa, joten sen asettaminen kudossympäristöön on mahdollista. Tämän työn nojalla voidaan sanoa, että PCL voitaisiin käyttää injektoitavassa luusementin kaltaisessa käyttökohteessa.

## LÄHTEET

- Abdelwahed, W., Degobert, G. & Fessi, H. 2006. *A pilot study of freeze drying of poly(epsilon-caprolactone) nanocapsules stabilized by poly(vinyl alcohol): Formulation and process optimization*. International Journal of Pharmaceutics 309, 1-2, s. 178-188.
- Alani, A., Knowles, J.C., Chrzanowski, W., Ng, Y. & Gulabivala, K. 2009. *Ion release characteristics, precipitate formation and sealing ability of a phosphate glass-polycaprolactone-based composite for use as a root canal obturation material*. Dental Materials 25, 3, s. 400-410.
- An, Y. & Draughn, R. 2000. Mechanical testing of bone and the bone-implant interface, CRC Press, Boca raton, Florida, USA, 624 s.
- Ang, K., Leong, K., Chua, M. & Chandrasekaran, M. 2007. *Compressive properties and degradability of poly (epsilon-caprolactone)/ hydroxyapatite composites under accelerated hydrolytic degradation*. Journal of Biomedical Materials 80A, s. 655-660
- ASTM 543- 07e1. 2007. Standard Specification and Test methods for metallic medical bone screws. ASTM International. 20 s.
- ASTM D695. 2008. Standard test method for compressive properties of rigid plastics. ASTM International. 16 s.
- ASTM F 1839-08e1 2008. Standard Specification for Rigid Polyurethane Foam for Use as a Standard Material for Testing Orthopaedic Devices and Instruments. ASTM International. 6 s.
- Bioplanet [WWW]. [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://bioplanet.us/bioplastics.php>
- Bohner, M., Gbureck, U. & Barralet, J.E. 2005. *Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: A critical assessment* Biomaterials 26, 33, s. 6423-6429.
- Bohner, M. & Baroud, G. 2005. *Injectability of calcium phosphate pastes*. Biomaterials 26, 13, s. 1553-1563.
- Buchbinder, R., Osborne, R., Edeling, P., Wark, J., Mitchell, P. Wriedt, C., Graves, S., Phil, D., Staples, P. & Murphy, B. 2009. *A randomized trial of vertebroplasty for painful osteoporotic vertebral fractures*. The new England Journal of Medicine 361, 6, s. 557-568
- Burstein, A., Reilly D. & Martens, M. 1976. *Aging of bone tissue: mechanical properties*. The Journal of Bone and Joint surgery 58,1 s. 82-86.
- Chen, B. & Sun, K. 2005. *Mechanical and dynamic viscoelastic properties of hydroxyapatite reinforced poly(epsilon-caprolactone)*. Polymer Testing 24, 8, s. 978-982.
- Chen, L., Tai, C., Lai, P., Lee, D., Tsai, T., Fu, T., Niu, C. & Chen, W. 2009. *Pullout strength for canulated pedicle screws with bone cement augmentation in severely osteoporotic bone: influence of radical hole and pilot hole tapping* 24, 8, s. 613-618.
- Chen, D.R., Bei, J.Z. & Wang, S.G. 2000. *Polycaprolactone microparticles and their biodegradation*, Polymer Degradation and Stability 67, 3, s. 455-459.
- Choung, E.W. & Tan, V. 2008. *Foreign-Body Reaction to the Artelon CMC Joint Spacer: Case Report*. The Journal of Hand Surgery 33, 9, s. 1617-1620.

- Clarkin, O., Boyd, D., Madigan, M. & Towler, M. 2009. *Comparison of an experimental bone cement with a commercial control, Hydroset<sup>TM</sup>*. Journal of Material Science: Materials in Medicine 20, 7, s. 1563-1570.
- Corden, T.J., Jones, I.A., Rudd, C.D., Christian, P., Downes, S. & McDougall, K.E. 2000. *Physical and biocompatibility properties of poly- $\epsilon$ -caprolactone produced using in situ polymerisation: a novel manufacturing technique for long-fibre composite materials*. Biomaterials 21, 7, s. 713-724.
- Darwis, D., Mitomo, H., Enjoji, T., Yoshii, F. & Makuuchi, K. 1998. *Enzymatic degradation of radiation crosslinked poly( $\epsilon$ -caprolactone)*. Polymer Degradation and Stability 62, 2, s. 259-265.
- Datta, R., Tsai, S., Bonsignore, P., Moon, S. & Frank, J.R. 1995. *Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives*. FEMS Microbiology reviews 16, 2-3, s. 221-231.
- Davison, K.S., Siminoski, K., Adachi, J.D., Hanley, D.A., Goltzman, D., Hodsdman, A.B., Josse, R., Kaiser, S., Olszynski, W.P., Papaioannou, A., Ste-Marie, L., Kendler, D.L., Tenenhouse, A. & Brown, J.P. 2006. *Bone Strength: The Whole Is Greater Than the Sum of Its Parts*. Seminars in arthritis and rheumatism 36, 1, s. 22-31.
- Draye, A., Persenaire, O., Brozek, J., Roda, J., Kosek, T. & Dubois, P. 2001. *Thermogravimetric analysis of poly( $\epsilon$ -caprolactam) and poly[( $\epsilon$ -caprolactam)-co-( $\epsilon$ -caprolactone)] polymers*. Polymer 42, 20, s. 8325-8332.
- Dunne, N. & Orr, J. 2001. *Thermal characteristics of curing acrylic bone cement*. ITBM-RBM 2, 22, s. 88-97.
- Ethicon [WWW] [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://www.ethicon360.com/products/monocryl-poliglecaprone-25-suture>
- Eshraghi, S. & Das, S. 2010. *Mechanical and microstructural properties of polycaprolactone scaffolds with one-dimensional, two-dimensional, and three-dimensional orthogonally oriented porous architectures produced by selective laser sintering*. Acta Biomaterialia 6, 7, s. 2467-2476
- Fried, J. 2003. *Polymer Science and Technology*. Prentice Hall Professional technical reference, toinen painos, New Jersey, 582 s.
- Ginebra, M.P., Traykova, T. & Planell, J.A. 2006. *Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review*. Journal of Controlled Release 113, 2, s. 102-110.
- Goh, J., Shah, K. & Bose, K. 1995. *Biomechanical study on femoral neck fracture fixation in relation to bone mineral density*. Clinical Biomechanics 10, 6 s. 304-308
- Gough, J. & Christian, P. 2008. *Polycaprolactones kirjassa Encyclopedia of biomedical engineering*. Editoinut Bowlin, G. & Wnek, G. Kolmas painos, New York, Informa healthcare s. 2197-2204
- Gowariker, V., Viswanathan, N. & Shreedhar, J. 1986 *Polymer chemistry, ensimmäinen painos*, New Delhi, New age international 505 s.
- Grosvenor, M.P. & Staniforth, J.N. 1996. *The effect of molecular weight on the rheological and tensile properties of poly( $\epsilon$ -caprolactone)*. International journal of pharmaceutics 135, 1-2, s. 103-109.
- Guarino, V., Causa, F., Taddei, P., di Foggia, M., Ciapetti, G., Martini, D., Fagnano, C., Baldini, N. & Ambrosio, L. 2008. *Poly(lactic acid) fibre-reinforced polycaprolactone scaffolds for bone tissue engineering*. Biomaterials 29, 27, s. 3662-3670.
- Harrane, A., Meghabar, R. & Belbachir, M. 2006. *Kinetics of the ring opening polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone catalysed by a proton exchanged montmorillonite clay*. Reactive and Functional Polymers 66, 12, s. 1696-1702.



- Hashemi, A. Bedner, D. & Ziada, S. 2009. *Pullout strength of pedicle screws augmented with particulate calcium phosphate: An experimental study*. The Spine Journal 9, 5, s. 404-410.
- Hassenwinkel, J. 2008. *Bone cements kirjassa Encyclopedia of biomedical engineering*. Editoinut Bowlin, G. & Wnek, G. Kolmas painos, New York, Informa healthcare. s. 403-413.
- Heiner, A.D. 2008. *Structural properties of fourth-generation composite femurs and tibias*. Journal of Biomechanics 41, 15, s. 3282-3284.
- Herzog, K., Müller, R. & Deckwer, W. 2006. *Mechanism and kinetics of the enzymatic hydrolysis of polyester nanoparticles by lipases*. Polymer Degradation and Stability 91, 10, s. 2486-2498.
- Hiljanen-Vainio, M. Orava, P. & Seppälä J. 1996. *Properties of  $\epsilon$ -caprolactone/DL-lactide ( $\epsilon$ -CL/DL-LA) copolymers with minor  $\epsilon$ -CL content*. Journal of Biomedical Materials Research 34,1 s. 39-46.
- Hirvonen, K., Karhumäki, T. & Tuominen, E. 2008 *Välinehuolto*. Kustannus Oy Duodecim, 440 s.
- Hu, Y.C. & Hart, D.J. 2007. *Complications of vertebroplasty and kyphoplasty*. Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management 11, 3, s. 164-170.
- Hutmacher, D.W. 2000. *Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage*. Biomaterials 21, 24, s. 2529-2543.
- Jacobsson, M. & Bengtsson, A. 2004. *Fat embolism and autologous blood transfusions in orthopaedic surgery*. Current Anaesthesia & Critical Care 15, 2, s. 87-93.
- Jenkins, M. & Harrison, K. 2006. *The effect of molecular weight on the crystallization kinetics of polycaprolactone*. Polymer for Advanced Technologies 17, 6, s. 474-478.
- Jérôme, C. & Lecomte, P. 2008. *Recent advances in the synthesis of aliphatic polyesters by ring-opening polymerization*. Advanced Drug Delivery Reviews, 60, 9, s. 1056-1076.
- Joshi, P. & Madras, G. 2008. *Degradation of polycaprolactone in supercritical fluids*. Polymer Degradation and Stability 93, 10, s. 1901-1908.
- Jung, Y., Park, M.S., Lee, J.W., Kim, Y.H., Kim, S. & Kim, S.H. 2008. *Cartilage regeneration with highly-elastic three-dimensional scaffolds prepared from biodegradable poly(l-lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone)*. Biomaterials, 29, 35, s. 4630-4636.
- Kivijärvi, J. 1983 Gammasäteilyn käyttömahdollisuuksista lääketeollisuudessa. Acta Pharmacia Fennica, 92, s. 9-17
- Korhonen, H., Helminen, A. & Seppälä, J.V. 2001. *Synthesis of polylactides in the presence of co-initiators with different numbers of hydroxyl groups*. Polymer 42, 18, s. 7541-7549.
- Kuehn, K., Ege, W. & Gopp, U. 2005. *Acrylic bone cements: mechanical and physical properties*, Orthopedic Clinics of North America 36, 1, s. 29-39.
- Kulkarni, A., Reiche, J., Hartmann, J., Kratz, K. & Lendlein, A. 2008. *Selective enzymatic degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone) containing multiblock copolymers*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 68, 1, s. 46-56.
- Lactel [WWW] [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://www.absorbables.com/reference.htm>
- Lam, C., Savanni, M., Teoh, S. ja Hutmacher, D. 2008. *Dynamics of in vitro polymer degradation of polycaprolactone-based scaffolds: accelerated versus simulated physiological conditions*. Biomedical Materials 3, 3, s. 1-15

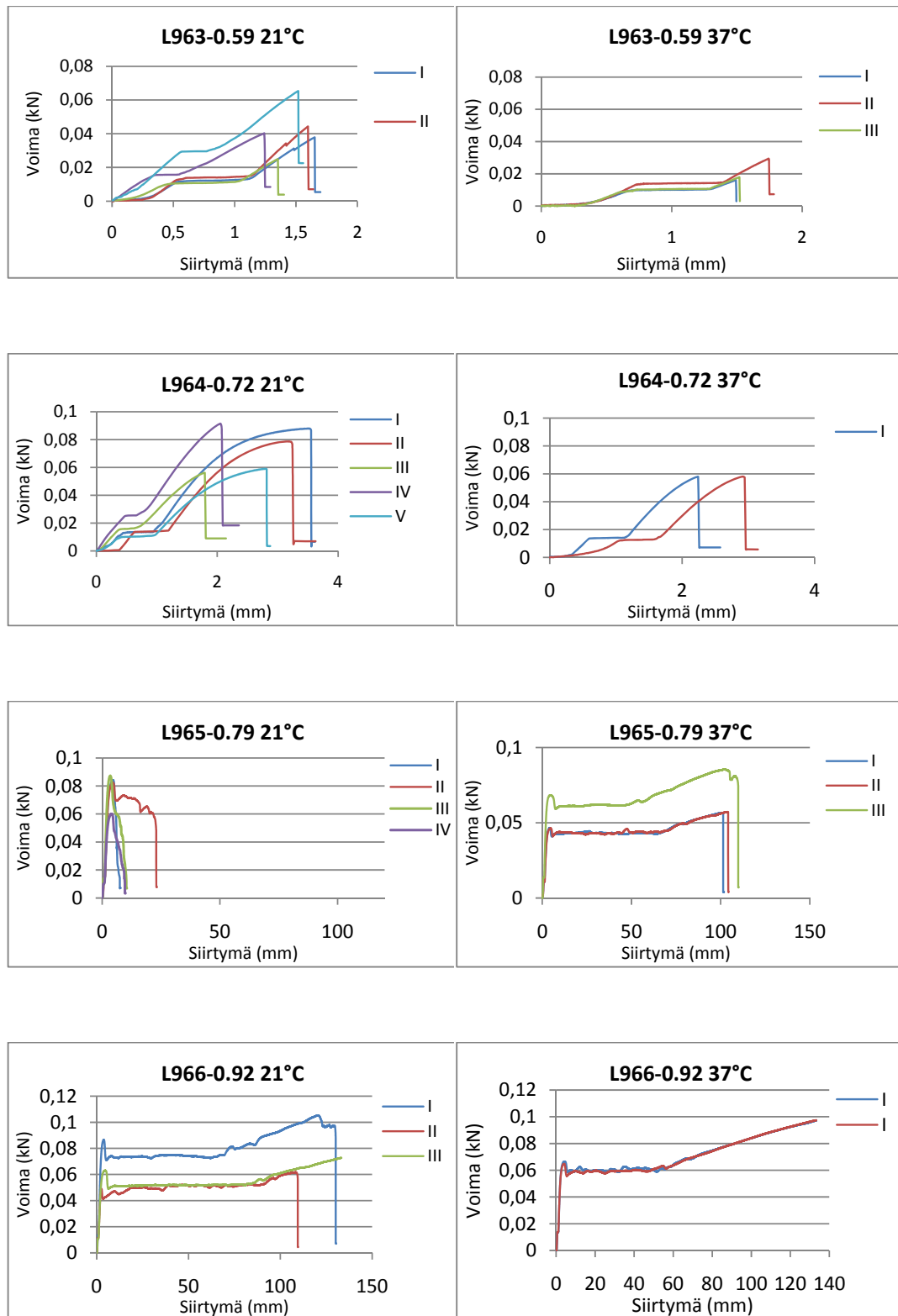
- Larsson, S. 2006. Injectable phosphate *Review cements* – A. [Verkkolehti]. [Viitattu 29.9.2009] Saatavissa: [http://www.osteosynthesis.stryker.com/medias/pdf/wp\\_hydroset\\_technical\\_review\\_larsson.pdf](http://www.osteosynthesis.stryker.com/medias/pdf/wp_hydroset_technical_review_larsson.pdf)
- Lei, Y., Rai, B., Ho, K.H. & Teoh, S.H. 2007. *In vitro degradation of novel bioactive polycaprolactone—20% tricalcium phosphate composite scaffolds for bone engineering*. Materials Science and Engineering: C 27, 2, s. 293-298.
- Lääkelaitoksen julkaisu: *Sterilointi perusterveydenhuollossa* [WWW]. [Viitattu 29.9.2009]. Saatavissa: [http://www.nam.fi/instancedata/prime\\_product\\_julkaisu/laakelaitos/embeds/julkaisut\\_Piensterilointi\\_Info\\_verkko.pdf](http://www.nam.fi/instancedata/prime_product_julkaisu/laakelaitos/embeds/julkaisut_Piensterilointi_Info_verkko.pdf)
- Matzinos, P., Tserki, V., Kontoyiannis, A. & Panayiotou, C. 2002. *Processing and characterization of starch/polycaprolactone products*, Polymer Degradation and Stability 77, 1, s. 17-24.
- Mavis, B., Demirtaş, T.T., Gümüşderelioğlu, M., Gündüz, G. & Çolak, Ü. 2009. *Synthesis, characterization and osteoblastic activity of polycaprolactone nanofibers coated with biomimetic calcium phosphate*. Acta Biomaterialia 5, 8, s. 3098-3111.
- McCaskie, A., Barnes, M., Harper, W. & Gregg P. 1997. *Cement pressurization during hip replacement*. The journal of bone and joint surgery B 79, 3, s. 379-386.
- Nikkola, L. 2009. Multifunktionaaliset polymeerit. Tampere, Tampereen teknillinen yliopisto. Luentomoniste 106 s.
- Nokelainen, P. [WWW]. Luento 3: ryhmien vertailu. Tampere, Tampereen yliopisto. Luentomoniste. [Viitattu 10.4.2010]. Saatavissa: [www.uta.fi/aktkk/ammk132/luennot/lu03.ppt](http://www.uta.fi/aktkk/ammk132/luennot/lu03.ppt)
- Nystrom, L., Raw, R., Buckwalter, J. & Morcuende, J. 2008. *Acute intraoperative reactions during the injection of calcium sulfate bone cements for the treatment of unicameral bone cysts: A review of four cases*. Iowa Orthopaedic Journal 28, s. 81-84.
- Odelius, K., Pliikk, P. & Albertsson, A. 2008. *The influence of composition of porous copolyester scaffolds on reactions induced by irradiation sterilization*, Biomaterials 29, 2, s. 129-140.
- Oh, S., Lee, J., Ghil, S., Lee, S., Yuk, S. & Lee, J. 2006. *PCL microparticle-disperser PLGA solution as a potential injectable urethral bulking agent*. Biomaterials 27, 9, s.1936-1944.
- Oláh, L., Filipczak, K., Czvikovszky, T., Czigány, T. & Borbás, L. 2007. *Changes of porous poly( $\epsilon$ -caprolactone) bone grafts resulted from e-beam sterilization proces*. Radiation Physics and Chemistry, 76, 8-9, s. 1430-1434.
- The Open door website [WWW] [Viitattu 10.4.2010] Saatavissa: <http://www.saburchill.com/IBbiology/downloads/002.pdf>
- Pat. USA 4200939. Method for fixation of prosthesis to bone. Codman & Shurtleff (Oser, Z). 05/843754, 10.09.1977. (05.06.1980) 4 s.
- Pastorino, L., Pioli, F., Zilli, M., Converti, A. & Nicolini, C. 2004. *Lipase-catalyzed degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)*. Enzyme and microbial technolog, 35, 4, s. 321-326.
- Perrin, D. 1997. Polycaprolactone kirjassa *Handbook of biodegradable polymers* editoinut Domb, A., Kost, J. & Wisemanm, M. Amsterdam, Harwood Academic Publishers, s. 63-79
- Perstorp [WWW] [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://perstorpcaprolactones.com/>
- Pitt C. 1990. *Polycaprolactone and Its copolymers* Kirjassa Biodegradable polymers as drug delivery systems, editoinut Chasin M. & Langer, R., New York, Marcel Dekker Inc. s. 71– 121.

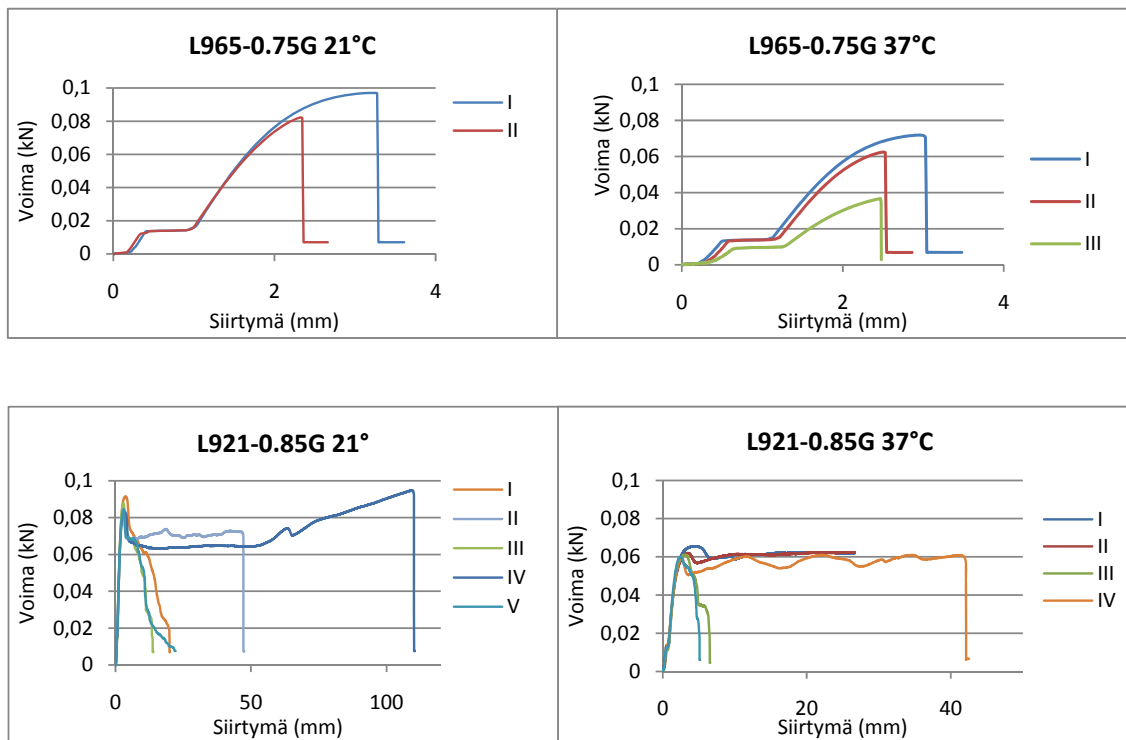
- Plikk, P., Odelius, K., Hakkarainen, M. & Albertsson, A.C. 2006. *Finalizing the properties of porous scaffolds of aliphatic polyesters through radiation sterilization*. Biomaterials 27, 31, s. 5335-5347.
- Pulkkinen, M., Malin, M., Böhm, J., Tarvainen, T., Wirth, T., Seppälä, J. & Järvinen, K. 2009. *In vivo implantation of 2,2'-bis(oxazoline)-linked poly-ε-caprolactone: Proof for enzyme sensitive surface erosion and biocompatibility*. European Journal of Pharmaceutical Sciences 36, 2-3, s. 310-319.
- Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A.M. & Chiellini, E. 2010. *Polymeric materials for bone and cartilage repair*, Progress in Polymer Science 35, 4, s. 403-440.
- Puumala, K. 2002. Suomen radiologiayhdistys: Perkutaaniset vertebra- ja kyfoplastiat. [Seminaariesitelmä]. [Viitattu 22.3.2010]. Saatavissa: <http://www.sry.fi/index.php?72>
- Qi, X., Ye, J. & Wang, Y. 2008. *Improved injectability and in vitro degradation of a calcium phosphate cement containing poly(lactide-co-glycolide) microspheres*. Acta Biomaterialia 4, 6, s. 1837-1845.
- Rich, J., Jaakkola, T., Tirri, T., Närhi, T., Yli-Urpo, A. & Seppälä, J. 2002. *In vitro evaluation of poly(ε-caprolactone-co-DL-lactide)/bioactive glass composites*. Biomaterials 23, 10, s. 2143-2150.
- Rohmiller, M.T., Schwalm, D., Glattes, R.C., Elalayli, T.G. & Spengler, D.M. 2002. *Evaluation of calcium sulfate paste for augmentation of lumbar pedicle screw pullout strength*. The Spine Journal 2, 4, s. 255-260.
- Rudnik, E. 2008. Compostable Polymer Materials Elsevier, Amsterdam, s. 211
- SBI Inc. [WWW]. [Viitattu 13.10.2009]. Saatavissa: [http://www.totalsmallbone.com/us/products/thumb/artelon\\_cmc.php4](http://www.totalsmallbone.com/us/products/thumb/artelon_cmc.php4)
- SFS-EN 45020 Standardointi ja siihen liittyvä toiminta. Yleisanasto 2007, Suomen standardisoimisliitto, 56 s.
- SFS-EN ISO 175. 1999. Plastics – Methods of test for the determination of the effects of immersion in liquid chemicals. 22 s.
- SFS-EN ISO 9917-1. Dentistry. Water-based cements. Part 1: Powder/liquid acid-base cements. 2008 Suomen standardisoimisliitto. 36 s.
- SFS-EN ISO 527 osat 1-3. Muovit. Veto-ominaisuuksien määrittäminen 1996, Suomen standardisoimisliitto. 15 s.
- SFS-ISO 1628-1:1998(E) Plastics – Determination of the viscosity of polymer in dilute solution using capillary viscosimeters. Helsinki 1998, Suomen standardisoimisliitto. 16 s.
- SFS-ISO 3105:1994 Glass capillary kinematic viscosimeters – Specifications and operating instruction. Helsinki 1994, Suomen standardisoimisliitto. 16 s.
- Serrano, M.C., Pagani, R., Vallet-Regí, M., Peña, J., Rámila, A., Izquierdo, I. & Portolés, M.T. 2004. *In vitro biocompatibility assessment of poly(ε-caprolactone) films using L929 mouse fibroblasts*. Biomaterials 25, 25, s. 5603-5611.
- Schrauwen, B., Breemen, L., Spoelstra, A., Govaert, L., Peters, G. & Meijer, H. 2004. *Structure, derofamation and failure of flow-oriented semicrystalline polymers*. Macromolecules 37, s. 8618-8633.
- Shenzhen BrightChina [WWW]. [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://a506953.s132.gzonet.com/e/>
- Shapelock. [WWW]. [Viitattu 22.2.2010] Saatavissa: <http://www.shapelock.com/index.html>

- Shor, L., Güçeri, S., Wen, X., Gandhi, M. & Sun, W. 2007. *Fabrication of three-dimensional polycaprolactone/hydroxyapatite tissue scaffolds and osteoblast-scaffold interactions in vitro*. Biomaterials 28, 35, s. 5291-5297.
- Siddiqui, A.A., Blakemore, M.E. & Tarzi, I. 2005. *Experimental analysis of screw hold as judged by operators v pullout strength*. Injury 36, 1, s. 55-59.
- Sigmaldrich. Biodegradable polymers. [WWW]. [Viitattu 13.10.2009]. Saatavissa: [http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Aldrich/Bulletin/al\\_ms\\_app\\_catalog\\_biomat.Par.0001.File.tmp/al\\_ms\\_app\\_catalog\\_biomat.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Aldrich/Bulletin/al_ms_app_catalog_biomat.Par.0001.File.tmp/al_ms_app_catalog_biomat.pdf)
- Siljander, S. 2006. Menetelmäohje-automaatti IV, Tampereen teknillinen yliopisto.
- Sinha, V.R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R. & Trehan, A. 2004. *Poly-ε-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview*. International journal of pharmaceutics 278, 1, s. 1-23.
- Solunetti. 2006. [Viitattu 6.7.2009] Saatavissa: <http://www.solunetti.fi>
- Solvay caprolactones. [WWW]. An Introduction to the Chemistry, Properties and Versatility of CAPA®, Caprolactone and Polycaprolactones [viitattu 17.3.2010] Saatavissa: [www.prochem.ch/.../CAPA%20Presentation%20-%20Electronic%20Version\\_english.pps](http://www.prochem.ch/.../CAPA%20Presentation%20-%20Electronic%20Version_english.pps)
- Sperling, L. 2001. *Introduction to physical polymer science*, kolmas painos, New York, Wiley. 870 s.
- Spierings, P. 2005. *The well-cemented total hip arthroplasty: theory and practice*. Kirjassa The well-cemented total hip arthroplasty: theory and practice, editoinut Breusch, S. & Malchau, H. Heidelberg, Sringer Medizin Verlag s. 67-86.
- Sprockel, O.L., Sen, M., Shivanand, P. & Prapaitrakul, W. 1997. *A melt-extrusion process for manufacturing matrix drug delivery systems*. International journal of pharmaceutics 155, 2, s. 191-199.
- Stanczyk, M & Van Rietbergen, B. 2004. *Thermal analysis of bone cement polymerization at the cement-bone interface*. Journal of Biomechanics 12, 37, s. 1803-1810.
- Stavridi, M., Katsikogianni, M. & Missirlis, Y.F. 2003. *The influence of surface patterning and/or sterilization on the haemocompatibility of polycaprolactones*. Materials Science and Engineering: C 23, 3, s. 359-365.
- Sukeik, M.T.S. & Haddad, F.S. 2009. (vi) *Management of periprosthetic infection in total hip arthroplasty*. Orthopaedics and Trauma 23, 5, s. 342-349.
- Sun, H., Mei, L., Song, C., Cui, X. & Wang, P. 2006. *The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant*. Biomaterials 27, 9, s. 1735-1740.
- Suomen Osteoporoosiliitto. [WWW] [Viitattu 8.4.2010] Saatavissa: [http://www.osteoporoosiliitto.fi/sivu.php?artikkeli\\_id=1](http://www.osteoporoosiliitto.fi/sivu.php?artikkeli_id=1)
- Swee, H. 2004. Engineering materials for biomedical applications, World Scientific Publishing Co, Danvers. 352 s.
- Södergård, A. & Stolt, M. 2002. *Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition*. Progress in Polymer Science 27, 6, s. 1123-1163.

- Tang, Z.G., Black, R.A., Curran, J.M., Hunt, J.A., Rhodes, N.P. & Williams, D.F. 2004. *Surface properties and biocompatibility of solvent-cast poly( $\epsilon$ -caprolactone) films*. Biomaterials 25, 19, s. 4741-4748.
- Tay, B.Y., Zhang, S.X., Myint, M.H., Ng, F.L., Chandrasekaran, M. & Tan, L.K.A. 2007. *Processing of polycaprolactone porous structure for scaffold development*. Journal of Materials Processing Technology 182, 1-3, s. 117-121.
- Temenoff, J.S. & Mikos, A.G. 2000. *Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering*. Biomaterials 21, 23, s. 2405-2412.
- Tierney, L.M., McPhee, S.J. & Papadakis, M.A. 2005. *Current Medical Diagnosis and Treatment*, McGraw-Hill Medical Publishing Division. 1887 s.
- Tillman, B.W., Yazdani, S.K., Lee, S.J., Geary, R.L., Atala, A. & Yoo, J.J. 2009. *The in vivo stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction*. Biomaterials 30, 4, s. 583-588.
- Tsuji, H., Echizen, Y. & Nishimura, Y. 2006. *Photodegradation of biodegradable polyesters: A comprehensive study on poly(l-lactide) and poly( $\epsilon$ -caprolactone)*. Polymer Degradation and Stability 91, 5, s. 1128-1137.
- Valuatlas [WWW] [Viitattu 8.2.2010] Saatavissa:  
[http://www.valuatlas.net/tietomat/docs/mould\\_injmoulding\\_materials\\_FI.pdf](http://www.valuatlas.net/tietomat/docs/mould_injmoulding_materials_FI.pdf)
- Vivas, M. & Contreras, J. 2003. *Ring-opening polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone initiated by diphenylzinc*. European Polymer Journal 39, 1, s. 43-47.
- Wan, Y., Wu, H., Cao, X. & Dalai, S. 2008. *Compressive mechanical properties and biodegradability of porous poly(caprolactone)/chitosan scaffolds*. Polymer Degradation and Stability 93, 10, s. 1736-1741.
- Wang, J. & Dong, C. 2006. *Physical properties, crystallization kinetics, and spherulitic growth of well-defined poly( $\epsilon$ -caprolactone)s with different arms*. Polymer 47, 9, s. 3218-3228.
- Wang, F., Shor, L., Darling, A., Khalil, S., Sun, W., Guceri, S. & Lau, A. 2004. *Precision extruding deposition and characterization of cellular poly-caprolactone tissue scaffold*. Rapid prototyping 10, 1, s. 42-49.
- Wang, S., Yaszemski, M.J., Knight, A.M., Gruetzmacher, J.A., Windebank, A.J. & Lu, L. 2009. *Photo-crosslinked poly( $\epsilon$ -caprolactone fumarate) networks for guided peripheral nerve regeneration: Material properties and preliminary biological evaluations*. Acta Biomaterialia 5, 5, s. 1531-1542.
- Wang, Y., Mori, R., Ozoe, N., Nakai, T. & Uchio, Y. 2009. *Proximal half angle of the screw thread is a critical design variable affecting the pull-out strength of cancellous bone screws*. Clinical Biomechanics 24, 9, s. 781-785.
- Wei, X., Gong, C., Gou, M., Fu, S., Guo, Q., Shi, S., Luo, F., Guo, G., Qiu, L. & Qian, Z. 2009. *Biodegradable poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system*. International Journal of Pharmaceutics 381, 1, s. 1-18.
- Williams, D. F. 1999. *The Williams dictionary of biomaterials*. Liverpool university press, 368 s.
- Williamson, M.R., Adams, E.F. & Coombes, A.G.A. 2006. *Gravity spun polycaprolactone fibres for soft tissue engineering: Interaction with fibroblasts and myoblasts in cell culture*. Biomaterials 27, 7, s. 1019-1026.

- Wiria, F.E., Leong, K.F., Chua, C.K. & Liu, Y. 2007. *Poly-ε-caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering*. Acta Biomaterialia 3, 1, s. 1-12.
- Woodruff, M. & Hutmacher, D. 2010. *Return of forgotten polymer- Polycaprolactone in the 21<sup>st</sup> century*. Progress in Polymer Science Julkaisematon, 40 s.
- Wright Medical Technology. 2010 [WWW] [Viitattu 8.2.2010] Saatavissa: [www.wmt.com](http://www.wmt.com)
- Xu, H.H.K., Burguera, E.F. & Carey, L.E. 2007. *Strong, macroporous, and in situ-setting calcium phosphate cement-layered structures*, Biomaterials 28, 26, s. 3786-3796.
- Ye, W.P., Du, F.S., Jin, W.H., Yang, J.Y. & Xu, Y. 1997. *In vitro degradation of poly(caprolactone), poly(lactide) and their block copolymers: influence of composition, temperature and morphology*. Reactive and Functional Polymers 32, 2, s. 161-168.
- Yen, C., He, H., Lee, L.J. & Ho, W.S. 2009. *Synthesis and characterization of nanoporous polycaprolactone membranes via thermally- and nonsolvent-induced phase separations for biomedical device application*. Journal of Membrane Science 343, 1-2, s. 180-188.
- Yeo, A., Rai, B., Sju, E., Cheong, J. & Teoh, S. 2007. *The degradation profile of novel, bioresorbable PCL-TCP scaffold: An in vitro and in vivo study*. Wiley InterScience [Verkkolehti]. 84,1 s. 208-218 [Viitattu 10.3.2010] Saatavissa: [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com)
- Youan, B.B.C., Benoit, M.-A., Baras, B., Gillard, J., 1999. *Protein-loaded poly(ε-caprolactone) microparticles. I. Optimization of the preparation by (water-in-oil)-in-water emulsion solvent evaporation*, Journal of Microencapsulation 16, 5, s. 587-599
- Zhu, Y. & Ong, W.F. 2009. *Epithelium regeneration on collagen (IV) grafted polycaprolactone for esophageal tissue engineering*. Materials Science and Engineering: C 29, 3, s. 1046-1050.

**Liite A: Vetokokeiden voima-siirtymäkäyrät**





## Liite B: Kemiallisen kestävyys tulokset

Etanoli 99,5%											
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Kaava (4)	Ka	Kaava (5)	Ka	Kaava (6)	Ka	Kaava (7)	Ka	Ero alkaperäiseen pituuteen (mm)	Ero alkaperäiseen paksuuteen (mm)	Ero alkaperäiseen leveyyteen (mm)
1	0.762	<b>0.972</b>	0.123	<b>0.104</b>	0.005	<b>0.0065</b>	0.0008	<b>0.0007</b>	-0.540	-0.030	0.070
2	0.277		0.109		0.002		0.0007		-0.760	-0.010	-0.050
3	1.878		0.079		0.013		0.0005		-0.150	0.030	-0.020
4	0.637	<b>0.970</b>	0.036	<b>0.064</b>	0.004	<b>0.0066</b>	0.0002	<b>0.0004</b>	-0.310	0.010	0.000
5	1.297		0.035		0.009		0.0002		0.970	0.030	-0.070
6	0.977		0.120		0.007		0.0008		0.310	0.030	0.040
7	3.301	<b>3.276</b>	1.185	<b>0.974</b>	0.021	<b>0.0217</b>	0.0077	<b>0.0064</b>	1.090	0.060	-0.010
8	2.647		0.959		0.018		0.0064		-0.020	-0.210	0.150
9	3.879		0.779		0.026		0.0053				
10	3.678	<b>4.798</b>	-0.025	<b>0.019</b>	0.024	<b>0.0316</b>	-0.0002	<b>0.0001</b>	-0.140	0.000	0.000
11	2.703		0.126		0.018		0.0008		0.010	0.000	0.000
12	8.012		-0.044		0.053		-0.0003		0.030	-0.010	0.000
Vetyperoksidiliuos											
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Kaava (4)	Ka	Kaava (5)	Ka	Kaava (6)	Ka	Kaava (7)	Ka	Ero alkaperäiseen pituuteen (mm)	Ero alkaperäiseen paksuuteen (mm)	Ero alkaperäiseen leveyyteen (mm)
1	0.024	<b>0.024</b>	0.024	<b>-0.027</b>	0.0002	<b>0.0002</b>	0.0002	-	0	-0.01	0
2	-0.059		-0.059		-0.0004		-0.0004		-0.02	0.01	-0.02
3	0.107		-0.045		0.0007		-0.0003		0.09	-0.05	0.01
4	0.555	<b>0.387</b>	-0.039	<b>0.001</b>	0.0037	<b>0.0025</b>	-0.0003	<b>0.0000</b>	0	-0.03	0.01
5	0.183		-0.025		0.0012		-0.0002		-0.08	0.05	-0.04
6	0.424		0.067		0.0026		0.0004		0.86	0.04	0.15
7	0.849	<b>0.725</b>	0.125	<b>0.090</b>	0.0057	<b>0.0048</b>	0.0008	<b>0.0006</b>	0.39	0.06	-0.01
8	0.644		0.082		0.0040		0.0005		0	-0.01	0.06
9	0.682		0.062		0.0046		0.0004		-0.07	0.03	0.02
10	0.5783	<b>0.5209</b>	0.1663	<b>0.1482</b>	0.0036	<b>0.0033</b>	0.0010	<b>0.0009</b>	-0.12	-0.02	-0.1
11	0.4383		0.1349		0.0027		0.0008		-0.15	0.01	-0.03
12	0.5462		0.1433		0.0035		0.0009		-0.04	0	-0.04
Maitolappo											
C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Kaava (4)	Ka	Kaava (5)	Ka	Kaava (6)	Ka	Kaava (7)	Ka	Ero alkaperäiseen pituuteen (mm)	Ero alkaperäiseen paksuuteen (mm)	Ero alkaperäiseen leveyyteen (mm)
1	0.52	0.35	-0.09	<b>0.04</b>	0.003	<b>0.002</b>	-0.001	<b>0.000</b>	-0.01	-0.01	-0.05
2	0.18		0.01		0.001		0.000		0.03	0	0.03
3	0.37		0.21		0.003		0.001		-0.05	-0.02	-0.04
4	0.26	0.42	0.21	<b>0.27</b>	0.002	<b>0.003</b>	0.001	<b>0.002</b>	0.08	-0.03	-0.03
5	0.48		0.28		0.003		0.002		-0.07	-0.01	0
6	0.52		0.31		0.003		0.002		-0.1	-0.09	-0.03
7	2.19	2.29	1.12	<b>1.34</b>	0.014	<b>0.015</b>	0.007	<b>0.009</b>	-0.18	-0.08	-0.02
8	2.76		1.68		0.017		0.011		-0.07	-0.02	0.01
9	1.93		1.22		0.012		0.008		-0.04	-0.04	-0.02
10	1.63	1.96	0.92	<b>1.13</b>	0.010	<b>0.013</b>	0.006	<b>0.007</b>	-0.03	0.01	0.01
11	1.94		1.15		0.013		0.008		-0.01	0.04	0
12	2.32		1.33		0.015		0.009		0.03	-0.02	-0.02
Tetrahydrofuraani											
THF	Kaava (4)	Ka	Kaava (5)	Ka	Kaava (6)	Ka	Kaava (7)	Ka	Ero alkaperäiseen pituuteen (mm)	Ero alkaperäiseen paksuuteen (mm)	Ero alkaperäiseen leveyyteen (mm)
1	20.09	6.58	-7.52	<b>-6.765</b>	0.119	<b>0.039</b>	-0.045	<b>-0.044</b>			
2	5.54		-5.20		0.038		-0.035				
3	-5.88		-7.57		-0.041		-0.053				
4	-27.81	-25.19	-39.71	-	-0.178	<b>-0.156</b>	-0.254	<b>-0.294</b>			
5	-35.32		-52.02	<b>47.468</b>	-0.213		-0.313				
6	-12.43		-50.67		-0.077		-0.315				
7	-44.67	-41.18	-58.20	-	-0.288	<b>-0.378</b>	-0.375	<b>-0.401</b>			
8	-50.00		-50.00	<b>44.805</b>	-0.657		-0.657				
9	-28.88		-26.22		-0.190		-0.172				

	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
3	0	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11	12	13	13
4	1	2	3	4	4	5	6	7	8	9	10	11	11	12	13	14	15	16	17	17	18	19	20	21	22	23
5	2	3	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	17	18	19	20	22	23	24	25	27	28	29	30	32	33
6		5	6	8	10	11	13	14	16	17	19	21	22	24	25	27	29	30	32	33	35	37	38	40	42	43
7			8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	50	52	54
8				13	15	17	19	22	24	26	29	31	34	36	38	41	43	45	48	50	53	55	57	60	62	65
9					17	20	23	26	28	31	34	37	39	42	45	48	50	53	56	59	62	64	67	70	73	76
10						23	26	29	33	36	39	42	45	48	52	55	58	61	64	67	71	74	77	80	83	87
11							30	33	37	40	44	47	51	55	58	62	65	69	73	76	80	83	87	90	94	98
12								37	41	45	49	53	57	61	65	69	73	77	81	85	89	93	97	101	105	109
13									45	50	54	59	63	67	72	76	80	85	89	94	98	102	107	111	116	120
14										55	59	64	67	74	78	83	88	93	98	102	107	112	118	122	127	131
15											64	70	75	80	85	90	96	101	106	111	117	122	125	132	138	143
16												75	81	86	92	98	103	109	115	120	126	132	138	143	149	154
17													87	93	99	105	111	117	123	129	135	141	147	154	160	166
18														99	106	112	119	125	132	138	145	151	158	164	171	177
19															113	119	126	133	140	147	154	161	168	175	182	189
20																127	134	141	149	156	163	171	178	186	193	200
21																	142	150	157	165	173	181	188	196	204	212
22																		158	166	174	182	191	199	207	215	223
23																			175	183	192	200	209	218	226	235
24																				192	201	210	219	228	238	247
25																					211	220	230	239	249	258
26					</																					